

皮膚の生理機能を評価するためのレーザースペックル血流計の開発

著者	永嶋 義直
その他のタイトル	Development of laser speckle blood flowmeter for evaluating the physiological function of skin
学位授与年度	令和元年度
学位授与番号	17104甲情工第344号
URL	http://hdl.handle.net/10228/00007997

令和元年度 博士学位論文

皮膚の生理機能を評価するための レーザースペckル血流計の開発

Development of laser speckle blood flowmeter
for evaluating the physiological function of skin

永 嶋 義 直
Yoshinao Nagashima

目次

I. 略 語	4
II. 序 論	5
III. 本 論	7
第 1 章 レーザースペckル血流計 (LSFG)	7
1.1 LSFG の構成	7
1.2 LSFG の測定原理	8
1.3 光システムの構成条件	10
1.4 LSFG の血流指標	11
1.5 LSFG の解析方法	13
1.6 LSFG 測定対象部位の指定方法	15
1.7 LSFG マッピング画像の作成方法	17
第 2 章 LSFG の最適化	19
2.1 速度較正器と LSFG の比較	19
2.1.1 実験材料及び実験方法	19
2.1.2 統計解析	20
2.1.3 実験結果	21
2.1.4 考察	21
2.1.5 小括	22
2.2 偏光フィルター装着による表面反射光低減効果について	22
2.2.1 実験方法	22
2.2.2 実験結果	23
第 3 章 LSFG の測定条件	25
3.1 計測距離の違いによる皮膚血流の安定性比較	25
3.1.1 はじめに	25
3.1.2 対象及び測定条件	25
3.1.3 解析方法	26
3.1.4 統計解析	26
3.1.5 実験結果	27

3.1.6 考察	28
3.1.7 小括	28
3.2 計測角度の違いによる皮膚血流の安定性比較	29
3.2.1 はじめに.....	29
3.2.2 対象及び測定条件	29
3.2.3 解析方法	30
3.2.4 統計解析	30
3.2.5 実験結果	31
3.2.6 考察	34
3.2.7 小括	34
第 4 章 熱クリアランス法と LSFG との比較.....	35
4.1 はじめに	35
4.2 TDM の理論式	36
4.3 対象及び測定条件	38
4.4 解析方法	39
4.5 統計解析	39
4.6 実験結果	40
4.7 考察	42
4.8 小括	43
第 5 章 ストレインゲージプレチスモグラフと LSFG との比較	44
5.1 はじめに	44
5.2 対象及び測定条件	45
5.3 解析方法	46
5.4 統計解析	47
5.5 実験結果	47
5.6 考察	49
5.7 小括	49
第 6 章 LSFG の皮膚血流指標と年齢との関係	50
6.1 はじめに	50
6.2 対象及び測定条件	50
6.3 解析方法	50
6.4 統計解析	54
6.5 実験結果	54

6.6	考察	56
6.7	小括	57
第 7 章	LSFG の皮膚血流指標と皮膚性状との関係	58
7.1	はじめに	58
7.2	対象及び測定条件	60
7.3	解析方法	62
7.4	統計解析	63
7.5	実験結果	63
7.6	考察	65
7.7	小括	67
IV.	総 括	68
V.	倫 理 承 認	71
VI.	謝 辞	72
VII.	参 考 文 献	73
VIII.	業 績 一 覧	76

I. 略 語

au	arbitrary unit (任意単位)
BOT	blowout time (高い血流量の持続性を表す指標)
CVR	Cutaneous Vascular Resistance (皮膚血管抵抗を表わす指標)
FAI	Flow Acceleration Index (血流の加速度を表わす指標)
LOA	95% limits of agreement (95%一致限界)
LSFG	laser speckle flowgraphy (レーザースペックルフローグラフィー)
MBR	mean blur rate (平均ブレ率：組織血流量の指標)
N	number of samples (被検者の数)
OGP	Opal glass plate (スリガラス回転盤)
SBF	skin blood flow (皮膚血流量)
SD	standard deviation (標準偏差)
SPG	strain-gauge plethysmography (ストレインゲージプレチスモグラフ)
TEWL	trans-epidermal water loss (経皮水分蒸散量)
TDM	thermal diffusion method (熱クリアランス法)
95%CI	95% coefficient interval (95%信頼区間)

II. 序 論

ストレスや疲労などの内的及び外的環境要因による刺激が、皮膚血行動態の反応性を低下させることで、皮膚の生理機能を悪化させている可能性が示唆されている。皮膚血行動態を介したこの内的外的環境要因と皮膚生理機能との関係を明らかにできれば、ヘルスケア研究において、皮膚の健康維持に繋がるケア法の提案ができる可能性が非常に大きい。この提案を確立するためには、ストレスや疲労負荷時の皮膚血行動態の変化が皮膚生理機能（肌性状）に与える影響について、継続的に詳細な検討が必要である。しかし、今までに、顔面全体の皮膚血流量、或いは、皮膚血流量の反応性を、非侵襲で、かつ連続的に、部位間、或いは、個体間の比較ができる計測機器は、存在しなかった。よって、本研究が提案しようとしている、皮膚血行動態を調整することで、肌性状の健康維持に繋がる方法論を検証することは、容易ではなかった。

レーザーを利用した皮膚血流測定法は、レーザードップラー血流計が早い時期から各方面で研究されてきた¹。我々は、温度負荷装置を装備した接触式加算レーザードップラー血流計を開発した²⁻⁴。本装置は、皮膚血管の形態や分布状態により生じる皮膚血流量の変動である空間変動や時間経過により生じる皮膚血流量の変動である時間変動による影響を受けにくく、温度変化に対する正確な皮膚血管の収縮拡張反応を連続的に短時間に再現することが可能となった。最近になってこれらを二次元に拡張し、皮膚血流を視覚的に捉えるための装置がつつぎと開発されている^{5,6}。その中で、Fujii らによりレーザースペckルの原理を応用した眼底血流を計測する機器が開発され、医療分野で広く応用されている⁷。この眼底への照射が認知されているレーザー光源を使って、顔面全体の皮膚血流を計測する場合には、そのレーザー光を顔面全体に均一に拡散させるので、顔面に照射されるエネルギーは、単位面積当たり低くなる。それゆえに、安全性が極めて高いと考えられる。

本研究の目的は、皮膚血流と皮膚性状との関係を明らかにして、皮膚血流を計測することで、皮膚生理物性値を直接計測しなくとも皮膚性状を予測可能にすることである。そのために、第1章では、まず、顔面皮膚血流を計測するレーザースペckル血流計（試作機器の名称、Laser Speckle Flowgraphy: LSFG）を試作する。第2章から第5章では、本試作機が、正確な皮膚血流量を計測できるか、計測距離及び角度の違い、そして血流計測法として確立されている熱勾配式熱クリアランス法及びストレンゲージプレチスモグ

ラフィとの相関性を検証する。第 6 章及び 7 章では、本試作機の応用として、LSFG の血流指標と加齢及び皮膚性状との関係について検討を加える。

Ⅲ. 本 論

第1章 レーザースペckル血流計（LSFG）

顔面にレーザーを照射すると、血球の動きを反映した動的スペckルが観察される。LSFG では、この動的スペckルをイメージセンサーを用いて検出し、その時間的变化を各画素について解析し、空間的变化を血流分布として、疑似カラーで 2 次元的に表示している。しかし、顔面の詳細な境界は、不明瞭となり、計測部位を既定して血流データを解析することは困難であった。また、面積を既定して、血流を解析しようとする、顔の大きさには、個人差があるので、その規定した面積が、計測部位にマッチしているとは限らなかった。

そこで、本研究では、以下の項目について検討を行った。1.1 節では、以前に確立された LSFG の技術を基に新たに試作検討した LSFG の構成を示す。1.2 節から 1.4 節では、LSFG の測定原理と光システムの構成条件について述べてから、組織血流量の指標である MBR の算出方法について述べる。1.5 節では、LSFG の解析方法を光強度マップ→血流マップ→心拍マップ→合成マップの順に述べる。1.6 節では、LSFG の測定対象部位の指定方法として、顔メッシュを用いたモーフィング技術について述べる。1.7 節では、LSFG のマッピング画像を作成する方法として心拍マップ画像とビデオカラー画像とのスーパーインポーズについて述べる。

1.1 LSFG の構成

LSFG は、図 1.1 に示すように IEC 60825-1 (International Electrotechnical Commission: IEC) に基づいたクラス 1M のレーザー光を出力するプローブユニット（レーザーモジュール：830 nm、カラーCMOS カメラ：解像度 640×480 pixels、LSFG 用 CCD カメラ：解像度 600×480 pixels）、コントロールユニット（レーザー出力及びプローブの CCD カメラ等を制御する）、及び PC（測定ソフトウェア、解析ソフトウェア）から構成される。本研究では、動物実験用の probe unit、control unit、及び PC（LSFG-ANW, Softcare Co., Ltd., Fukuoka, Japan）を原器として、試作開発を進めた。新

たに導入したのは、プローブユニットに含まれるカラーCMOS カメラ、コントロールユニットに入力される心電図信号（ECG）、及び LSFG-ANW の計測ソフトと解析ソフトを改変したものである（図 1.1 の緑色の部分）。

ハードウェアの電氣的ノイズの補正は行っていないが、市販のレーザースペックル血流計と比較して、安定した血流値が得られている。LSFG は、九州工業大学 藤居研究室で研究されてきた血流量分布画像化システムである⁸。

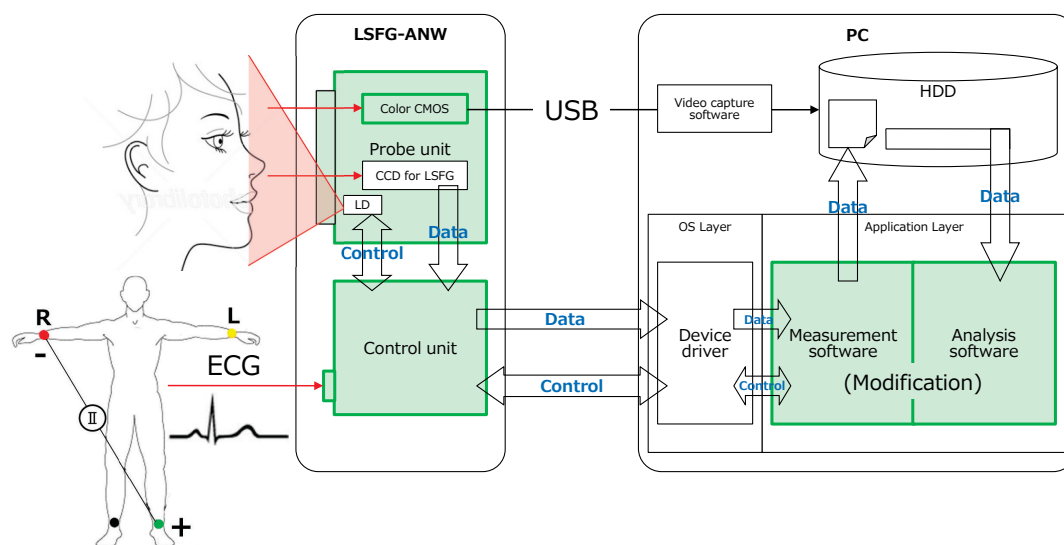


図 1.1 新規皮膚血流計測システムのブロック図

新規皮膚血流計測システムは、プローブユニット（カラーCMOS カメラ、LSFG 用 CCD カメラ、及びレーザー光源）、コントロールユニット（ECG 入力、レーザー出力及びプローブの CCD カメラ等を制御）、及び PC（測定ソフトウェア、解析ソフトウェア）から構成される。緑色の部分が本研究で改変した部分である。

1.2 LSFG の測定原理

従来の血流計測法は、できるだけ計測条件を一定にして、被検対象者に負荷を与え、負荷前、負荷後の血流変化から血流の増減を判定していた。しかし、臨床の現場では、顔面全体の皮膚血流量を計測して、全体の皮膚血流量を把握してから、より局所の皮膚血流量を計測して、詳細な局所皮膚血流量を全体の皮膚血流量と比較することが望まれている。そこで、これからの章では、皮膚血流量の個体間比較ができる血流計の開発について検討を進めた。

コヒーレントな光であるレーザー光を生体組織など多数の散乱粒子の集合体に照射すると、図 1.2(a)のようなスペックルパターン (Speckle Pattern) と呼ばれる斑点模様が生じる。この斑点模様は、レーザー光を照射した散乱粒子により、反射光に光路差が生じ、それらが相互に干渉することによって発生する。このスペックルパターンは、光源が固定されている場合、各粒子の動きによって形状が変化する。すなわち、移動する散乱体によって作られたスペックルパターンは、その散乱体の移動量情報を含んでいることになる。移動する散乱物体にレーザーを照射して発生するスペックルには、並進運動とボイリング運動の 2 種類の運動状態がある。並進運動とは、散乱物体の移動に伴ってスペックルが一体となって動き、形状を変えない運動である。血管内の赤血球にレーザー光を照射した場合、赤血球は、血管の中を互いの位置関係を変えながら移動していくため、スペックルパターンは、時間ごとにランダムに変化するボイリング運動が観察される。このスペックルパターンの変動を統計的に解析することによって、血流量を求めるのが、LSFG の測定原理である⁸。図 1.2(b)は、血流画像と顔画像をスーパーインポーズしたマッピング画像である。図 1.2(c)には、LSFG システムの写真を示す。レンズで結像したスペックルは、イメージセンサーで受光することで検出している。検出器の各画素により出力される値は、光強度を検出器の露光時間 (シャッタースピード) ΔT で積分した値となる。時刻 t で画素 k が受光するスペックルの平均光強度を $i_k(t)$ とすると、 n フレーム目に検出器の画素 k が受ける光強度 $I_k(n)$ は、式(1.1)で表される⁸。

$$I_k(n) = \int_n^{n+\Delta T} i_k(t) dt \quad (1.1)$$

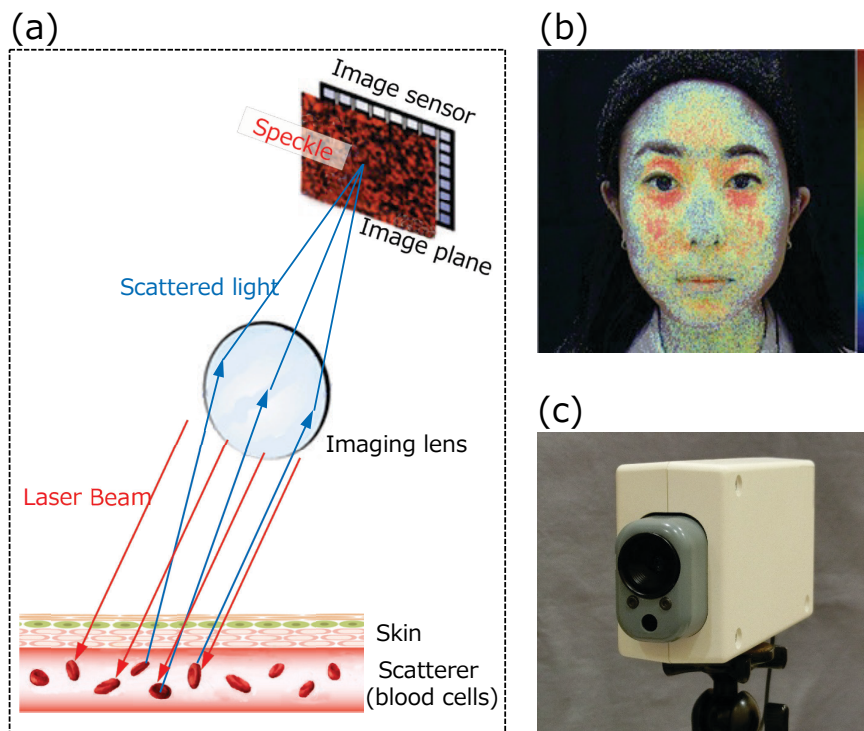


図 1.2 Laser Speckle Flowgraphy (LSFG) の原理と概要

(a) LSFG の原理：レーザーを皮膚に照射し、血管内の赤血球による反射散乱光が形成するランダムなスペックルパターンをイメージセンサーで検出する。赤血球の動きに合わせて変化するスペックルパターンの速度変化を算出し、2次元カラーマップ表示することで、皮膚血流分布を画像化する。(b) マッピング画像（血流画像と顔画像をスーパーインポーズ）(c) 新規皮膚血流計測装置（LSFG）

1.3 光システムの構成条件

今回の計測条件は、機器 LSFG-ANW を改変して、以下のように行った。

結像系（Imaging System）中の最小絞りとそのイメージセンサーまでの距離は、スペックルサイズを決定する重要な要因である。今回、50cm と 25cm の 2 つの測定距離のピントを合わせるために焦点距離 12mm の結像レンズとイメージセンサーの距離を移動させた。レンズの主点（Principal Point）とイメージセンサーの距離は 50cm と 25cm の測定距離でそれぞれ約 12.3mm と約 12.6mm となり、2%程度の変化となるため、スペックルサイズへの影響も極めて少ない。絞り値はスペックルサイズが、CCD カメラのセルサイズに近い大きさとなるよう設定した。また、シャッタースピードを速くして露光時間を短くすると、スペックルパターンの瞬間を捉えることができるが、信号が弱くなるので、レーザーパワーを大きくしなければならない。一方、シャッタースピードを遅くして露光時間を長くすると、レーザーパワー

を小さくできる。しかし、実効的な時間分解能や高速領域で後述する MBR との線形性が低下する。MBR を計算するのに使う spatial window size は、大きくすると平滑化によりノイズは減少するが、反面、血流の応答性が低下することを報告した Konishi らの知見を考慮した⁷。

1.4 LSFG の血流指標

LSFG で使う組織血流量の指標である MBR は、スペックルパターンの空間的及び時間的ブレ率から算出される。例えば、我々は、写真を撮るときに、動く物体の画像は、ブレることを経験している。空間的に変動するスペックルパターンのブレ率をコントラストで説明すると、物体の速度とコントラストの間には、反比例の関係がある。時間 t における n, m 番目の画素での MBR 値を式(1.2)に示す⁷。

$$MBR_{n,m,t} = \frac{\langle I_{n,m,t} \rangle^2}{\langle |I_{n,m,t} - \langle I_{n,m,t} \rangle| \rangle^2} \quad (1.2)$$

ただし、 $I_{n,m,t}$ は算出する MBR 画素におけるスペックル画像の出力画素を表す。また、 $\langle I_{n,m,t} \rangle$ は、算出する MBR 画素を含む時間方向及び空間方向での周辺の画素の MBR 値の平均である。このような計算を全ての画素に対して行うことで MBR 画像を得ることができるが、MBR 画像の計算に用いる空間的範囲及び時間的範囲は一つとは限らず、空間的範囲及び時間的範囲は対象部位に応じて適宜定めるのが好ましい。例えば、図 1.3(a)に示すように 3 フレームから図 1.3(b)に示すように各画素の $MBR_{n,m,t}$ を計算することができる。

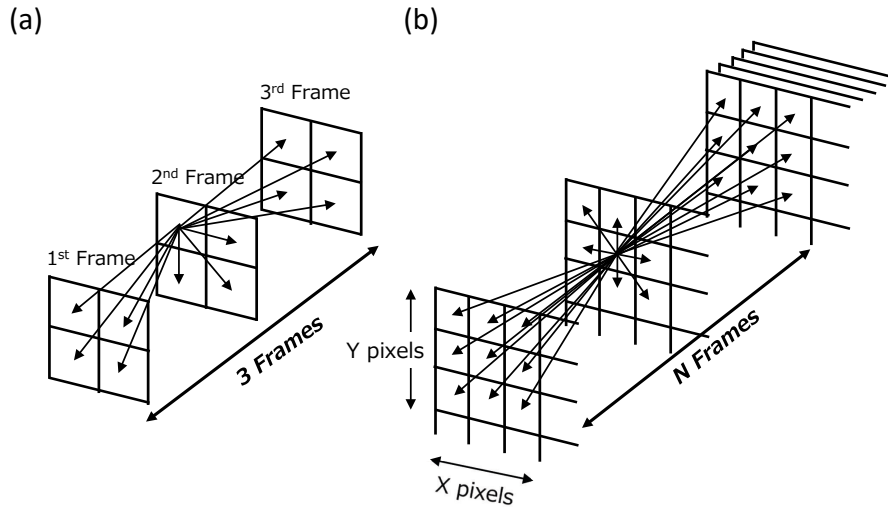


図 1.3 MBR 値の参照画素位置

各画素における光強度データを時間的・空間的に解析し求めた血流評価量を MBR 値と呼ぶ。(a) 2×2 画素から空間的変動量を算出し、3 フレーム分から時間的変動量を算出するための参照画素位置を示す。(b) $X \times Y$ 画素から空間的変動量を算出し、N フレーム分から時間的変動量を算出するための参照画素位置を示す。

図 1.4 は、一つの撮像素子において、時間的に変動するスペックルパターンのブレ率をモデル化している。横軸が測定時間、縦軸が測定対象物の動きを反映したスペックルの光強度の変動を表わす。図の青色部分は、撮像素子からの出力である。図 1.4(a)は、赤血球がゆっくり動く場合を想定している。撮像素子が捕らえる画像は、赤血球のゆっくりした動きを反映する。つまり、スペックルの斑点模様がゆっくり動くので、コントラストが高い画像となり、MBR 値は、低い値となる。皮膚血流量は、低い。一方、図 1.4(b)は、赤血球が速く動く場合を想定している。撮像素子が捕らえる画像は、赤血球の速い動きを反映する。つまり、スペックルの斑点模様が速く動くので、コントラストが低い画像となり、MBR 値は、高い値となる。皮膚血流量は、高い。従って、MBR は、赤血球の移動速度に比例し、スペックル光強度コントラストの 2 乗に反比例する⁹。

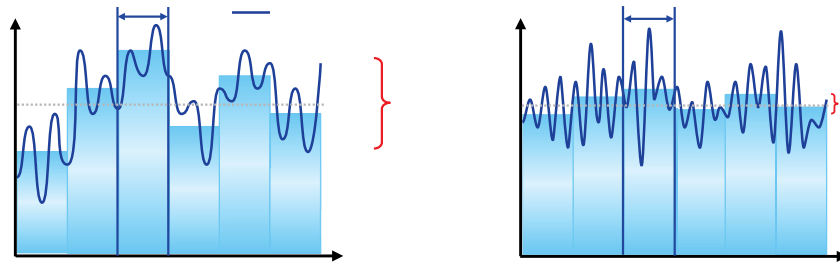


図 1.4 皮膚血流量の指標である MBR (Mean Blur Rate)の算出法

MBRは、イメージセンサーが検出する光強度コントラストの2乗の逆数からなる血流評価量

(a) 赤血球がゆっくり動く場合：ブレが少ない画像となり、MBR 値は低い値となる（皮膚血流量は低い）。

(b) 赤血球が速く動く場合：ブレが多い画像となり、MBR 値は高い値となる（皮膚血流量は高い）。

1.5 LSFG の解析方法

図 1.5 には、LSFG の解析方法を示す。1 枚のフレーム（完全に描画された画像の全体像）を 2 フィールド（各走査によって得られる部分的な画像）に分け、第 1 フィールドでは、1/60 秒間に奇数番目の水平走査を、次の第 2 フィールドでは、同じく 1/60 秒間に偶数番目の水平走査を行い、1/30 秒で 1 枚のフレームを合成する（30 fps: frame per second）インターレース走査（2:1 interlace）を行う。図 1.5(a)に示す光強度マップ（スペックル画像）は、LSFG 機器によって得られたデータで、レーザーの光強度を表わす。図 1.5(b)に示す血流マップ（MBR 画像）は、3 フレームの光強度マップからスペックルパターンのブレ率（MBR）を計算し、1 フレームの血流マップを算出する。血流マップの次のフレームは光強度マップの 1 フレームをずらした次の 3 フレームを使用する（N フレームの光強度マップに対し N-2 フレームの血流マップが出力される）。図 1.5(c)に示す心拍マップ（血流マップを 1 心拍で正規化した画像）は、血流マップの連続波形から心拍を検出し各フレームで加算平均を行い、1 心拍にまとめたもの。解析ソフトウェアが自動検知した心拍のタイミングを基に各部位の平均化を行う。血流マップよりもノイズの少ないデータになる。図 1.5(d)に示す合成マップ（平均血流画像）は、心拍マップの全フレームを加算平均し

た 1 フレームの静止画である（心拍マップの生成に失敗した場合は、血流マップの全フレームを平均する）。ノイズが少ない、鮮明な画像が得られる。

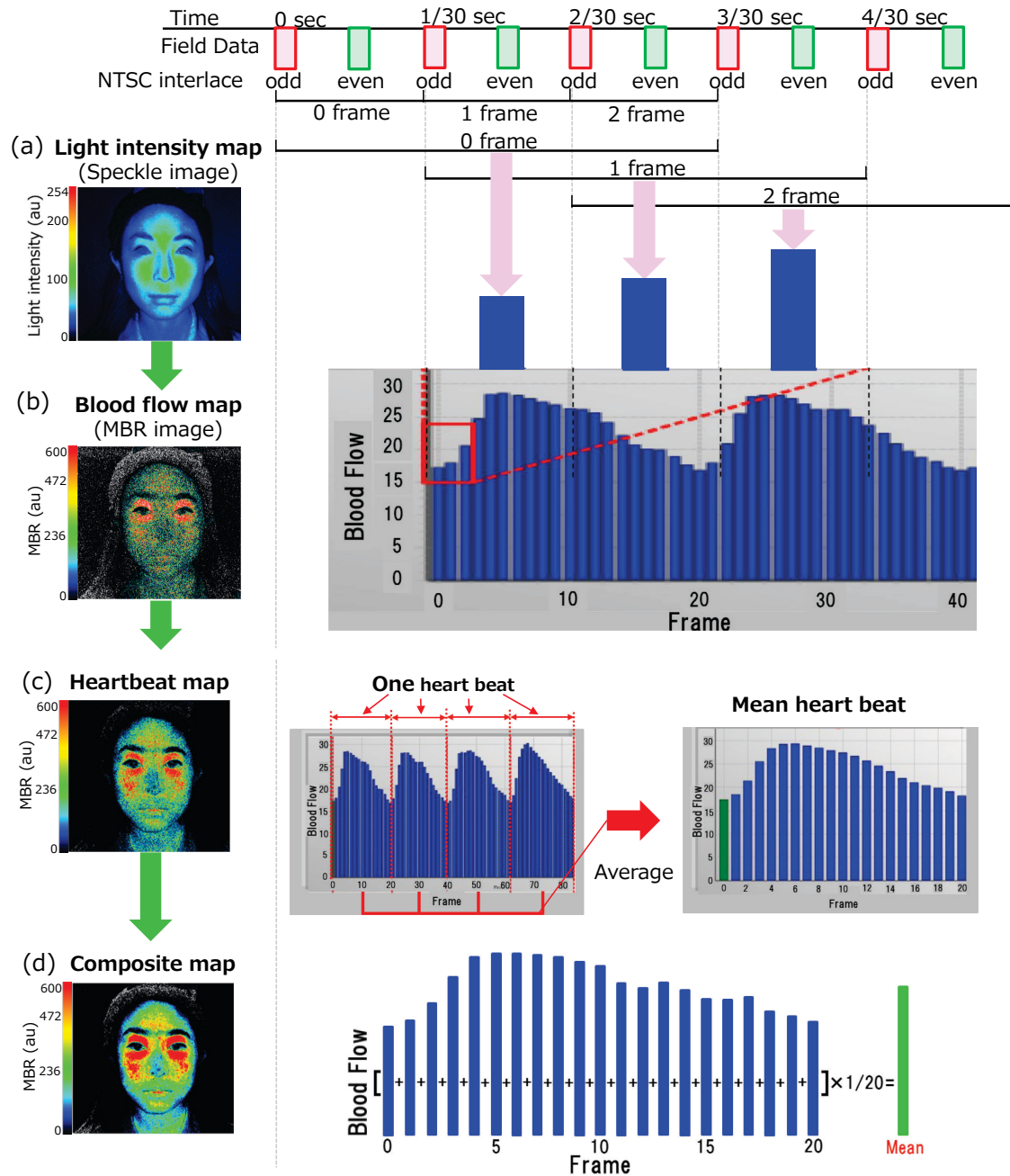


図 1.5 Laser Speckle Flowgraphy (LSFG) のデータ解析

(a) Light intensity map: LSFG によって計測されたデータ (b) Blood flow map: 光強度マップに演算処理をして得られる (c) Heart map: 血流マップの値を平均化し、1 心拍にまとめたもの (d) Composite map: 心拍マップの全フレームの平均を取ったマップ

1.6 LSFG 測定対象部位の指定方法

顔面皮膚血流量の個体間における部位差を比較する方法として、顔メッシュを用いたモーフィング技術を図 1.6 に示す^{10,11}。顔領域を検出する顔特徴点は、目の周囲の 22 点、眉毛の 10 点、鼻の周囲の 9 点、口の周囲の 14 点、鼻唇溝の 4 点、及び顔の輪郭の 11 点の計 70 個と定めており、顔特徴点抽出ソフトウェア (Luxand FaceSDK 6.2., Luxand, Inc., Maryland, USA) を使った画像処理により抽出し (図 1.6(b), 図 1.7)、これら顔特徴点をランドマークとして、自動的に顔メッシュを 42×42 に分割した (図 1.6(c))。顔メッシュの微調整は、輪郭のずれ、更に、眉毛、内外眼角、鼻尖、鼻下、及び口唇周囲にずれがある場合には、格子点に含まれる●または●の基準点を使って手動で調整した。基準点を動かすと周囲の格子点も一緒に動くが、他の基準点は動かないので、大まかな調整をするのに適している。細かい調整は、個々の格子点を使って手動で調整した。この顔メッシュの微調整は、すべての被検者に行った訳ではなく、行った微調整も 2、3 の基準点を調整する程度であった。図 1.8 に示すように各格子点間の X、Y 座標を 10 等分する 177241 個の交点を副格子点とした。その副格子点には、マッピング画像の X 座標、Y 座標、MBR 値、MBR 値に相当する 32bit true color が付与される。マッピング画像 (図 1.6(d)) に白く塗りつぶした Rubber band (図 1.6(e)) を割り付けることにより、顔面の大きさに比例した部位 (①前額、②鼻尖、③上唇、④下唇、⑤上眼瞼、⑥下眼瞼、⑦頬、⑧口角など) の血流量の指標を求めることができる。このモーフィング技術の robustness または repeatability の評価では、級内相関係数 (Intraclass Correlation Coefficients: ICC) の Case2 : ICC (2, K)を用いて、検者間の信頼性を統計学的に解析した¹²。対象は、20 代の健常女性 10 名で、部位は、図 1.6 (e)に示す①前額部と⑦右頬部である。検者は、研究員 5 名とし、被験者 10 名の顔面血流①と⑦を 3 回ずつ解析した。その結果、ICC は、前額部及び右頬部で 0.999 となり、 $p < 0.01$ で有意な検者間信頼性が認められた。

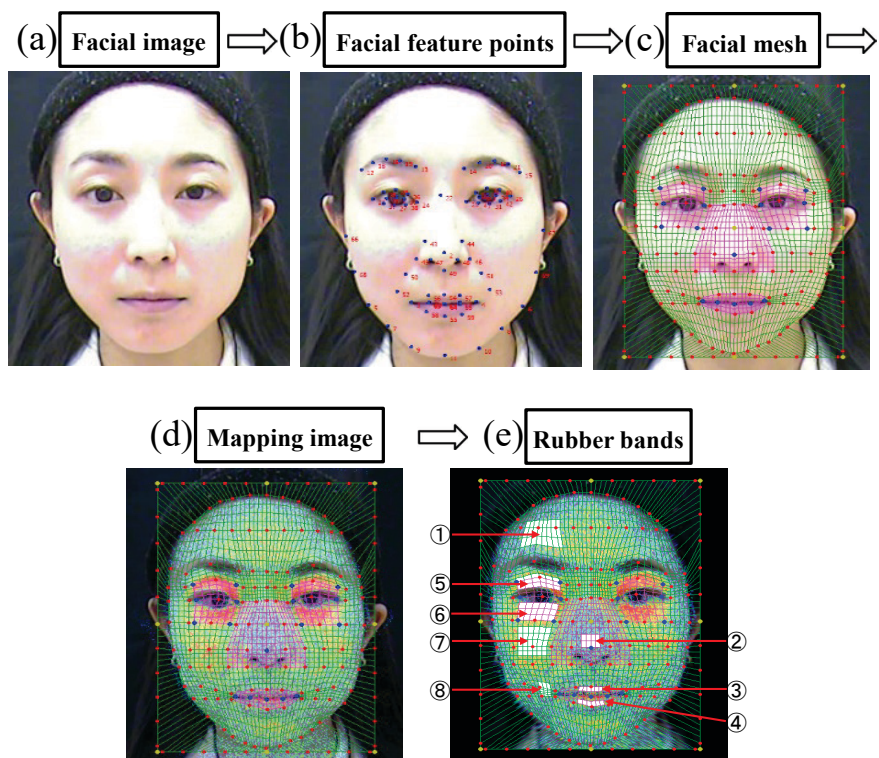


図 1.6 顔メッシュを応用した皮膚血流計測部位の設定

(a) Facial image から顔領域を検出する (b) 顔器官位置(Facial feature points)を画像処理により取得。自動的 (c) 顔メッシュを作成 ●と●は、基準点 (d) Mapping image に(e) Rubber band を割り付け、血流計測部位を設定 ①前額 ②鼻尖 ③上唇 ④下唇 ⑤上眼瞼 ⑥下眼瞼 ⑦頬 ⑧口角

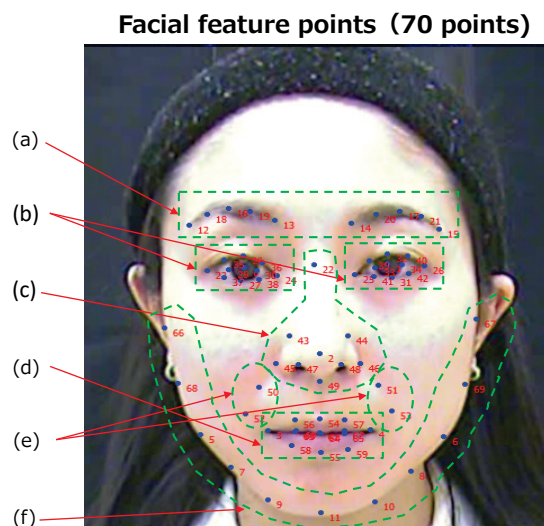


図 1.7 顔特徴点

(a) 眉毛の 10 点 (b) 目の周囲の 22 点 (c) 鼻の周囲の 9 点 (d) 口の周囲の 14 点 (e) 鼻唇溝の 4 点 (f) 顔の輪郭の 11 点

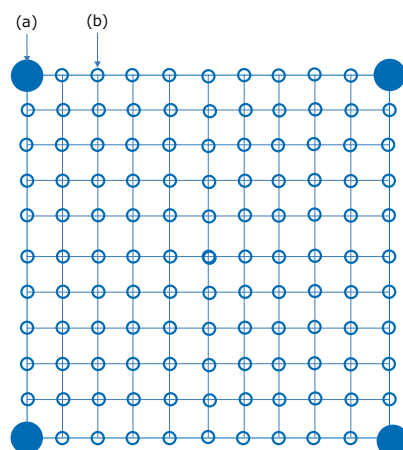


図 1.8 格子点間の補間

(a) 格子点 (b) 副格子点 : X、Y 座標を 10 等分する交点 (X 座標、Y 座標、MBR、Color)

1.7 LSFG マッピング画像の作成方法

機器 LSFG-ANW のソフトウェアを改変した解析ソフトウェア (LSFG Analyzer) を用いて、解析部位の heart beat を計測し、血流マップ画像の連続波形から心拍マップ画像を作成する。四肢誘導心電図の第 II 誘導を LSFG と同時記録しているので、心電図の R 波から遅れて LSFG の血流波形ピークが観察される。図 1.9 に示すように Tamaki らは、視神経乳頭と脈絡膜の血流を LSFG で記録した波形は、心電図の波形と同期して周期的に変動することを示した¹³。

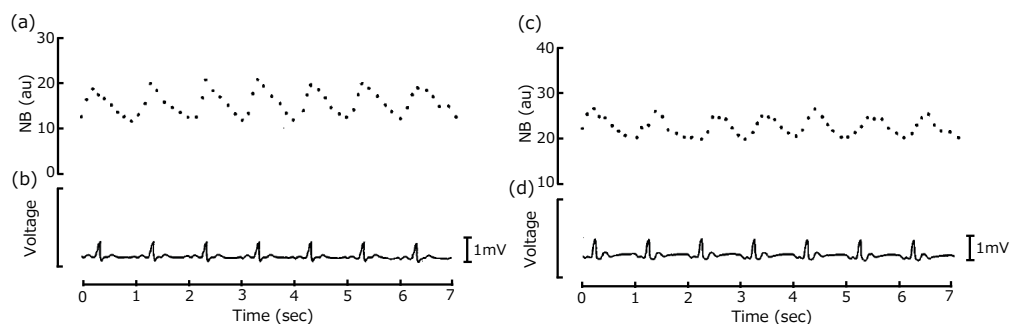


図 1.9 視神経乳頭の代表的な血流パターンと心電図波形との比較

(a) 視神経乳頭の血流波形、NB: 以前に使われていた組織血流量の指標、 $MBR = 2 \times NB^2$ (b) 心電図波形
(c) 脈絡膜の血流波形 (d) 心電図波形

次に、解析ソフトウェア（LSFG Movie Maker）を使って、心拍マップ画像とビデオカラー画像を superimpose して、マッピング画像を作成する。図 1.10(b)に示すマッピング画像（血流画像と顔画像をスーパーインポーズ）は、対応点（外眼角点、内眼角点、鼻下点、口角）を基準に心拍マップ画像（または合成マップ）とビデオ画像をスーパーインポーズする。図 1.10(c)に示す心拍マップ画像とビデオ画像の透過率調整は、任意に選択できるが、ビデオ画像に心拍マップ画像が 60% blend されるマッピング画像を使っている。マッピング画像は、心拍マップ画像だけでは確認できない顔面各部位の境界が鮮明になる。このマッピング画像から血流指標である MBR 値を算出した。

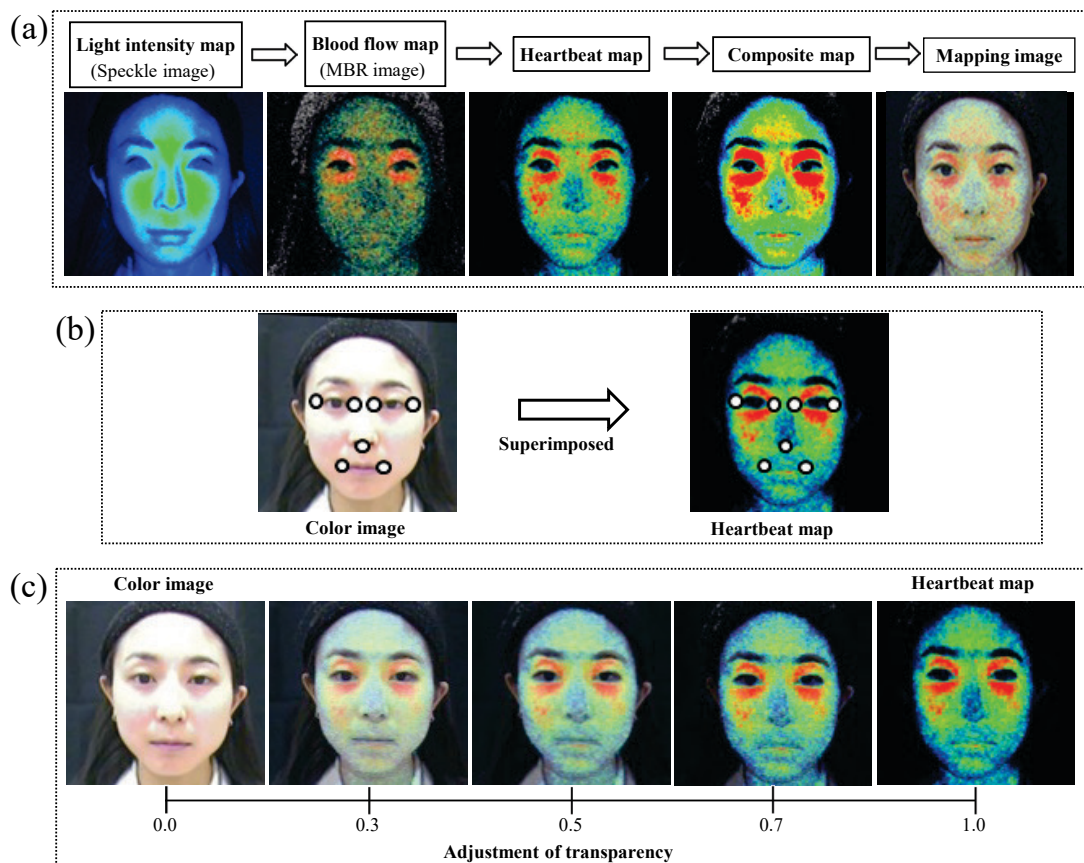


図 1.10 Laser Speckle Flowgraphy (LSFG) のマッピング画像作成

(a) データ解析 (b) 対応点を使って、心拍マップとビデオ画像をスーパーインポーズする。(c) 心拍マップとビデオ画像の透過率調節をする。

第2章 LSFG の最適化

本章では、試作検討した LSFG は、どのくらいの速度範囲に線形性が認められるのか、また、脂漏性部位の皮膚血流を計測するには、どういった方法が必要となるか、について述べる。

そこで、本研究では、以下の項目について検討を行った。2.1 節では、スリガラス回転盤を使った速度較正器と LSFG の比較について述べる。2.2 節では、偏光フィルター装着による表面反射光低減効果について述べる。

2.1 速度較正器と LSFG の比較

2.1.1 実験材料及び実験方法

速度計測は、外来光を避けて暗室（約 1.00lx, LSFG のプローブユニットには、可視光をカットするハイパスフィルタが入っている）で行った。図 2.1(a)に示すように Speed calibrator に高速モーターとスリガラス回転盤（Opal glass plate: OGP）を取り付けている。Speed calibrator と LSFG のプローブユニットを 25cm 離して、水平で安定した台の上に固定する。LSFG の計測は、OGP の中心から半径 20mm のところに縦 68×横 64 ピクセルの Rubber band を設定した。計測ソフトウェアで、LSFG のプローブユニットから OGP へ照射するスペckル光強度を 100 付近に設定し、高速モーターの速度を 2.0～10.0V まで変化させた時の OGP から反射される光強度を図 2.1(b)と 2.1(c)で示すように受光器で検出し、毎秒 30 フレームの連続したスペckル画像を 9 秒間取り込みスペckルの光強度と MBR 値を計測した。

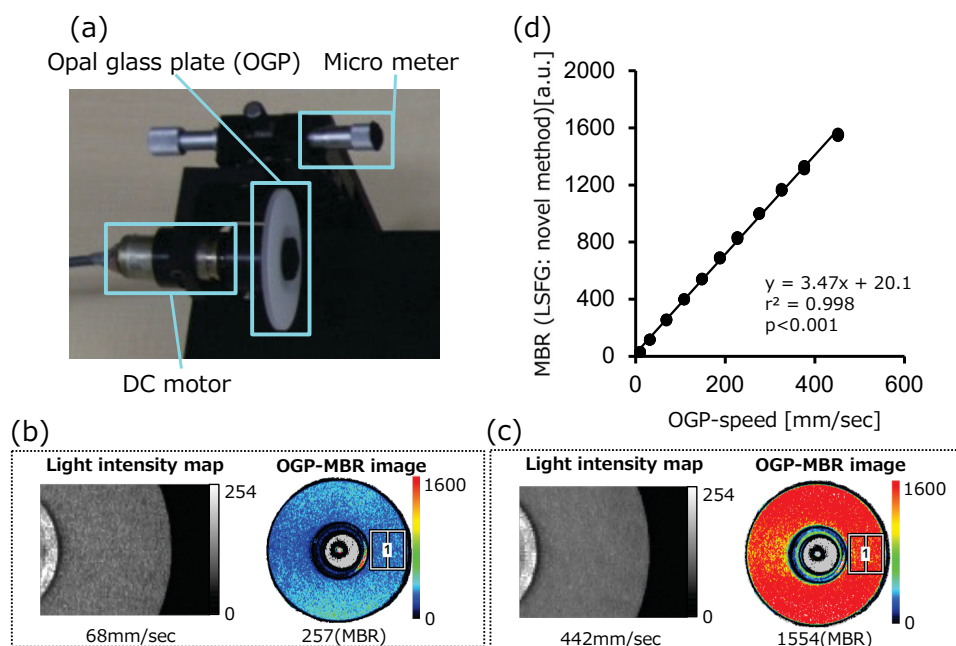


図 2.1 速度較正器を使った等速円運動の速度と LSFG の指標である MBR との関係

OGP の中心から 2cm のところに縦 68×横 64pixels の rubber band (速度計測部位)を設定。

(a) 速度較正器の構成 (b) OGP の速度が遅い場合：光強度マップは、コントラストが上がり、MBR 値は低くなる。(c) OGP の速度が速い場合：光強度マップは、コントラストが下がり、MBR 値は高くなる。(d) OGP の速度と MBR との関係：横軸に速度較正器を使った等速円運動の速度、縦軸に LSFG の指標である MBR を示す。

2.1.2 統計解析

OGP を使った等速円運動による速度 [mm/sec] を独立変数とし、現在開発中の LSFG で計測した皮膚血流量の指標である MBR 値 (au) を従属変数として、グラフにプロットし散布図を描く。そして、まず、この 2 変数間の相関の程度を Pearson の積率相関係数 (Pearson product-moment correlation coefficient) で評価する。次いで、単回帰分析 (A simple linear regression analysis) を行い、これら独立変数の変量が、MBR 値の分散を説明できるか (決定係数 R^2) で評価した。更に、1 要因の分散分析対応あり (One-Way Repeated-Measures ANOVA) によって、回帰分析全体の有意性を検討した。回帰係数 (単回帰分析では、回帰係数と相関係数は等しい) と切片の有意性は、t 検定によって検討した。

2.1.3 実験結果

速度較正器に OGP を取り付けて、等速円運動による速度 [mm/sec] を独立変数とし、現在開発中の LSFG で計測した皮膚血流量の指標である MBR 値を従属変数として、図 2.1(d)に散布図を描いた。その結果、OGP で計測した速度と LSFG で計測した MBR 値の間には、直線的な関係（線形関係）が仮定された。更に、最小二乗法（Ordinary Least Squares: OLS）により、直線の傾き（1.927）と切片（-53.280）を推定した。決定係数 R^2 （coefficient of determination: 全体の分散が回帰によってどの程度説明されたかを示す指標）は、0.997 となり、重相関係数（multiple correlation coefficient）は、0.999 となった。そこで、1 要因の分散分析対応あり（One-Way Repeated-Measures ANOVA）によって、決定係数の有意性を検討した結果、 $F > F_{0.001}$ となり、帰無仮説（ $R^2 = 0$ ）を棄却し、対立仮説（ $R^2 \neq 0$ ）を受け入れることができたので、決定係数の有意性を統計学的に認めた。更に、回帰係数（単回帰分析では、回帰係数と相関係数は等しい）と切片の有意性を t 検定によって検討した結果、 $t > t_{0.001}$ となり、帰無仮説（ $r = 0$ ）を棄却し、対立仮説（ $r \neq 0$ ）を受け入れることができたので、回帰係数及び切片の有意性を統計学的に認めた。

従って、両計測法の間には、有意な正の相関関係が認められ、LSFG の指標である MBR は、回転盤の速度と 30mm/sec～1550mm/sec の範囲で、正の相関関係が認められた。

2.1.4 考察

回転盤を応用したモデル実験では、スペックルパターンが形を変えずに一体となって動く並進運動を示すが、生体では、スペックルパターンが、ランダムに変化するボイリング運動が主になる。このスペックルパターンの違いは、回転盤の等速円運動による速度と OGP のコントラストの間で異なる特性を示す可能性が考えられる。後で述べる SPG と MBR の関係から、皮膚血流量の MBR は、180～1050 の範囲にあると推察されることから、本実験で検証した回転盤の速度範囲は、皮膚血流の速度範囲を反映している可能性が示唆された。

2.1.5 小括

OGP を応用したモデル実験では、LSFG の指標である MBR は、OGP による等速円運動の速度と 30mm/sec～1550mm/sec の範囲で、正の相関関係が認められたことから、この速度範囲では、MBR 値は、速度を示す指標として有効である可能性が示唆された。

2.2 偏光フィルター装着による表面反射光低減効果について

2.2.1 実験方法

通常、皮膚に照射されたレーザー光は表面反射光と内部反射光が加算された状態でプローブユニット（図 1.2(c)）に記録される。このうち、過剰な皮脂や汗及び深い皺や酷い肌荒れにより、表面反射光は、増加する。この表面反射光は、皮膚表層で反射しているため、血流情報を含んでおらず、Static scatter と呼ばれるノイズ成分の一部を増大させる。そこで、プローブユニットの前に表面反射されたレーザー光の偏光方向と垂直にポラライザー（偏光子）を設置すれば、照射したレーザー光が皮膚組織の表層で反射した光を受光部に取り込むのを低減することができる¹⁴⁻¹⁶。

顔面の脂漏性部位では、過剰な皮脂によって、皮膚表面がテカることがある。LSFG を使って、このような脂漏性部位の皮膚血流量を計測すると、内部反射光に対して表面反射光の寄与が大きくなり正確な皮膚血流量を計測することが困難となる。図 2.2 に示すように、表面反射光は、入射光の偏光方向が保存される。一方、内部反射光は、皮膚内部で複数回散乱した後に外へ出てくるために入射光の偏光が保存されない。そこで、表面反射光と内部反射光とを分離して抽出するためには、それぞれの偏光の相違を利用できる。

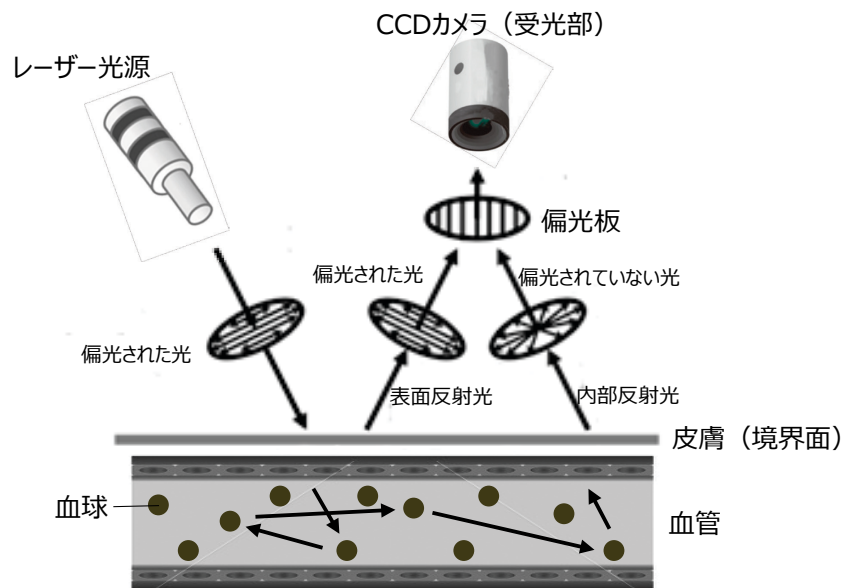


図 2.2 血流情報を持つ内部反射光を選択的に測定する方法

カメラの前に表面反射したレーザー光の偏光方向と垂直に偏光板を設置すると皮膚表層で反射した光を受光部に取り込むのを低減又は遮断できる。

2.2.2 実験結果

ベヒーオイルを前腕内側に過剰量塗布し鏡面反射を誘発させ状態で皮膚血流を計測した。偏光フィルター（反射型のワイヤーグリッド型偏光フィルター）をプローブユニットの前に置き、表面反射されたレーザー光の偏光方向と平行な向きから垂直な向きへと時計方向に90°回転させた。その結果、図 2.3 に示すように表面反射光はほとんど観察されなくなった。よって、脂漏性部位の皮膚血流量を計測する場合には、偏光フィルターを、表面反射されたレーザー光の偏光方向と垂直な向きに置くことが、表面反射光を低減させ、皮膚血流計測の精度を向上させるのに有効であることが示唆された。

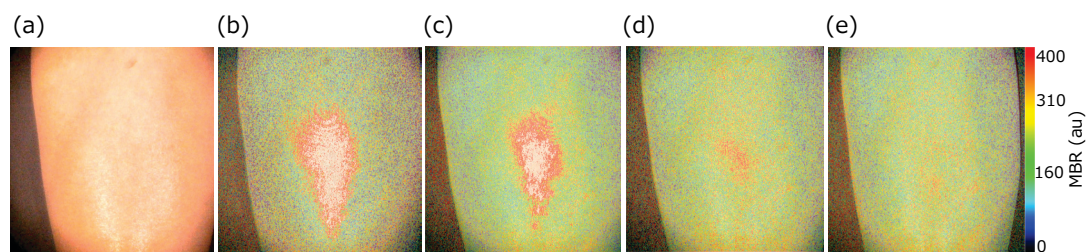


図 2.3 偏光フィルターを回転させた時の表面反射光の影響

(a) ベヒーオイルを前腕内側に過剰量塗布 (b) 偏光フィルターの偏光軸を皮膚から反射してくる入射光と平行 (c) 偏光軸を入射光と 30° (d) 偏光軸を入射光と 45° (e) 偏光軸を入射光と垂直

第3章 LSFG の測定条件

本章では、計測距離や計測対象の傾きが測定結果にどのような影響を及ぼすかについて調べた結果を述べる。

3.1 計測距離の違いによる皮膚血流の安定性比較

3.1.1 はじめに

従来のレーザースペckル血流計では、計測距離を一定にして血流を測定していた。しかし、顔面全体の皮膚血流量と顔面細部の皮膚血流量を比較するには、計測距離を変えた時の同一部位の皮膚血流量の値が一致して計測できることが望まれる。そこで、本試作機で顔面全体の皮膚血流量が計測できる 50cm の計測距離とより詳細に顔面の皮膚血流量が計測できる 25cm の計測距離で、同一部位の皮膚血流量が、どの程度安定して比較計測できるか検討した。

3.1.2 対象及び測定条件

20 代から 30 代までの健常女性 60 名（ 28.3 ± 3.53 歳）を対象に室温 25.0℃、湿度 50.0%RH の環境下に、semi-supine（半仰臥位：リクライニングシートに座り、下肢を約 60°持ち上げ、シートを約 30°倒した状態）の姿勢で 30 分間馴化した。LSFG の測定は、頭部を固定し、図 3.1 に示すように右頬部をプローブユニットから 25cm 及び 50cm 離して、正面から皮膚血流を計測する。25cm と 50cm の計測距離を測定する順番は、ランダムとした。計測方法は、30 fps (2:1 interlace) の条件で、連続測定法により、30 秒間計測を行う。そして、計測距離を変えて、直ちに、再度、30 秒間計測を行う。動きに対するアーチファクトに対しては、被検者を semi-supine の姿勢で、頭部及び前腕部を固定し、なるべく体が動かないようにして計測した。

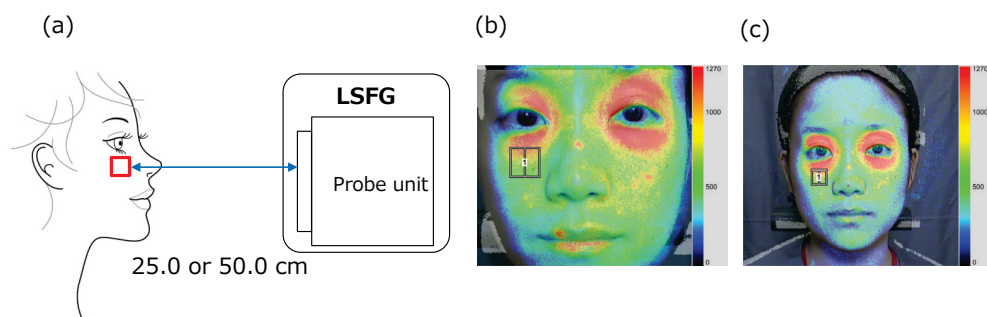


図 3.1 異なる計測距離で皮膚血流を測定

(a) 計測簡易図 (b) 25.0cm の距離で計測した頬部皮膚血流 (c) 50.0cm の距離で計測した頬部皮膚血流

3.1.3 解析方法

1.7 節で示した方法に従いマッピング画像を作成する。解析部位は、右頬部 1.5×1.5 cm (Rubber band の領域: 計測距離 25cm では、 80×80 pixels、計測距離 50cm では、 40×40 pixels) とした。安静時 30 秒間のマッピング画像から血流指標である MBR 値を算出した。

3.1.4 統計解析

計測距離 25cm で測定した皮膚血流量の指標である MBR 値 [au] を独立変数とし、計測距離 50cm で測定した皮膚血流量の指標である MBR 値 [au] を従属変数として、グラフにプロットし散布図を描く。そして、まず、この 2 変数間の相関の程度を Pearson の積率相関係数 (Pearson product-moment correlation coefficient) で評価する。次いで、単回帰分析 (A simple linear regression analysis) を行い、これら独立変数の変量が、従属変数の分散を説明できるか (決定係数 R^2) で評価した。更に、1 要因の分散分析対応あり (One-Way Repeated-Measures ANOVA) によって、回帰分析全体の有意性を検討した。回帰係数 (単回帰分析では、回帰係数と相関係数は等しい) と切片の有意性は、t 検定によって検討した。信頼性の検定では、絶対信頼性の評価に Bland-Altman 分析を用いた^{17, 18}。危険率 5%以下を有意差ありとした。

3.1.5 実験結果

図 3.2 に示すように計測距離 25cm と 50cm の間には、 $r^2 = 0.936$ と有意な正の相関関係が認められたことから、同一計測部位（右頬部）の MBR 値は、同等である可能性が示唆された。

表 3.1 では、測定距離 25cm と 50cm の間による皮膚血流の信頼性（reliability）を比較すると、2 つの測定値の差の平均（B-A）の 95%CI が 0 を含み、縦軸の 0 を中心に上下にバランスよくデータが分布している（-14.1~6.1 au）ので、加算誤差（fixed bias）が存在しないと判断できる。また、回帰直線の傾きに相当する回帰係数 RC は、0.055（ $p=0.128$ ）と有意性を統計学的に認められないことから、比例誤差（proportional bias）も存在しないと判断され、LOA は、-81.3~73.3 [au] となった。

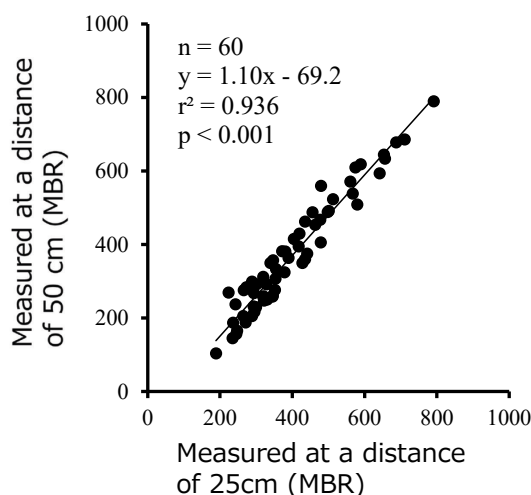


図 3.2 計測距離の違いによる皮膚血流量の安定性

28.3±3.53 歳の健常女性 60 名を対象に右頬部の正面から 25cm と 50cm の距離で計測した MBR 値の比較

表 3.1 異なる計測距離の測定値変動に対する Bland-Altman 分析

	Bland-Altman analysis			
	LOA* ¹	Fixed bias	Proportional bias	
		95%CI* ²	RC* ³	P-value
A. Measured at 25cm distance [au]* ⁴				
B. Measured at 50cm distance [au]				
Mean of measurements at A and B ($\frac{A+B}{2}$) [au]	-81.3 ~ 73.3	-14.1 ~ 6.1	0.055	0.128
Difference of measurements at A and B (B-A) [au]				

略語, *1: 95%一致限界, *2: 95%信頼区間, *3: 回帰係数, *4: 任意単位

3.1.6 考察

従来の Laser speckle imaging では、測定距離を一定にして、皮膚血流量を計測していたので、計測距離を短くして、倍率を上げて、同一部位の皮膚血流量を比較することはできなかった。しかし、臨床の現場では、顔面全体の皮膚血流量を計測して、全体の皮膚血流量を把握してから、より局所な皮膚血流量を計測して、詳細な局所皮膚血流量を全体の皮膚血流量と比較することが望まれている。そこで、計測距離が異なる皮膚血流量を比較できる方法を検討した。本研究では、計測距離が 50cm でちょうど顔面全体の皮膚血流量が計測できるので、計測距離が 50cm の時の MBR を基準にした。速度と MBR の間には、一次方程式（線形関係）が成り立つので、

$$MBR_{50} = MBR_{n,m,t} \times C_{50} + \text{Offset}_{50} \quad (3.1)$$

$$MBR_{25} = MBR_{n,m,t} \times C_{25} + \text{Offset}_{25} \quad (3.2)$$

が成り立つ。ただし、 $MBR_{n,m,t}$ は、式(1.2)で表され時間 t における n, m 番目の画素での MBR 値、 C_{50} は、計測距離 50cm の定数、 C_{25} は、計測距離 25cm の定数、 Offset_{50} は、計測距離 50cm の切片、 Offset_{25} は、計測距離 25cm の切片である。

$MBR_{50} = MBR_{25}$ と仮定すると、

$$MBR_{n,m,t} \times C_{50} + \text{Offset}_{50} = MBR_{n,m,t} \times C_{25} + \text{Offset}_{25} \quad (3.3)$$

となることから、 $MBR_{n,m,t}$ を変化させると C 及び Offset を求めることができる。

式(3.1), (3.2), (3.3)から、図 3.2 の近似直線を示すことができた。よって、50cm と 25cm の計測距離で測定した皮膚血流量は、同等である可能性が示唆された¹⁹。

3.1.7 小括

速度と MBR との間には、線形関係があることから、25cm と 50cm の計測距離で測定した皮膚血流量は、同等であることが検証できた。

3.2 計測角度の違いによる皮膚血流の安定性比較

3.2.1 はじめに

本論文では、計測角度を、正面を 0° として、左側を負値、右側を正值の角度で表わす。従来のレーザースペックル血流計では、計測角度を一定にして血流量を測定していた。しかし、顔面全体の皮膚血流量を正面 (0°) から測定すると、前額、鼻尖、顎、眼瞼、頬 (center side of cheek)、口唇、及び口角部などの皮膚血流は、容易に解析できるが、フェイスラインに沿った目尻や頬 (outer side of cheek) は、エッジ効果 (Edge Effect) により計測誤差が大きくなる。そこで、計測角度を左正面 (-45°) から右正面 (45°) まで振って、同一部位の皮膚血流量が、どの程度安定して比較計測できるか検討した。

3.2.2 対象及び測定条件

先ず、計測角度を左正面 (-45°) から右正面 (45°) まで振った予備実験では、20代から 50 代までの健常女性 5 名 (33.8 ± 10.3 歳) を対象とし、図 3.3 に示すように計測角度を左正面 (-30°)、正面 (0°)、及び右正面 (30°) にした本試験では、20 代から 30 代までの健常女性 60 名 (28.3 ± 3.53 歳) を対象に室温 25.0°C 、湿度 $50.0\%\text{RH}$ の環境下に、semi-supine (半仰臥位：リクライニングシートに座り、下肢を約 60° 持ち上げ、シートを約 30° 倒した状態) の姿勢で 30 分間馴化した。予備試験では、頭部を固定し、前額部をプローブユニットから 50cm 離して (計測距離 50cm)、計測角度を左正面 (-45°) から左正面 (-20°) までは、 5° おきに、左正面 (-20°) から右正面 (20°) までは、 10° おきに、そして、右正面 (20°) から右正面 (45°) までは、 5° おきに皮膚血流量を計測する。測定順序は、正面 (0°) から左正面 (-45°) または右正面 (45°) にランダムに振って、合計同一部位を 4 回計測する。本試験では、計測角度を正面 (0°) から左正面 (-30°) または右正面 (30°) にランダムに振って、合計同一部位を 4 回計測する。計測記録は、30 fps (2:1 interlace) の条件で、1 角度につき 5 秒間計測を行う。そして、角度を変えて、直ちに、再度、5 秒間計測を行う。

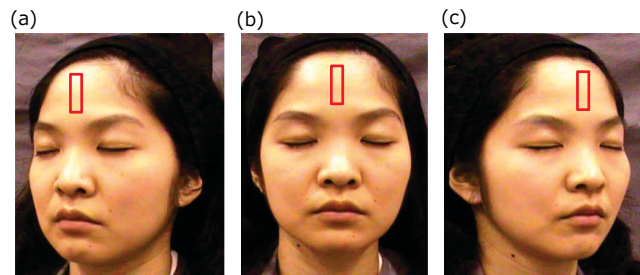


図 3.3 顔面の計測角度と計測部位

(a) 左正面 (-30°) (b) 正面 (0°) (c) 右正面 (30°) 赤枠：前額部皮膚血流計測部位

3.2.3 解析方法

1.7 節で示した方法に従いマッピング画像を作成する。解析部位は、前額部 0.9×1.8cm (Rubber band の領域：計測距離 50cm では、25×50 pixels) とした。安静時 5 秒間のマッピング画像から血流指標である MBR 値を算出した。

3.2.4 統計解析

正面 (0°) で測定した皮膚血流量の指標である MBR 値 [au] を独立変数とし、左正面 (-30°) または右正面 (30°) で測定した皮膚血流量の指標である MBR 値 [au] を従属変数として、グラフにプロットし散布図を描く。そして、まず、この 2 変数間の相関の程度を Pearson の積率相関係数 (Pearson product-moment correlation coefficient) で評価する。次いで、単回帰分析 (A simple linear regression analysis) を行い、これら独立変数の変量が、従属変数の分散を説明できるか (決定係数 R^2) で評価した。更に、1 要因の分散分析対応あり (One-Way Repeated-Measures ANOVA) によって、回帰分析全体の有意性を検討した。回帰係数 (単回帰分析では、回帰係数と相関係数は等しい) と切片の有意性は、t 検定によって検討した。信頼性の検定では、絶対信頼性の評価に Bland-Altman 分析を用いた^{17, 18}。危険率 5%以下を有意差ありとした。

3.2.5 実験結果

予備試験の結果、図 3.4 に示すように前額部 MBR の変動係数は、 $-30^{\circ}\sim 30^{\circ}$ の範囲では、 4.25 ± 0.05 と小さな値であったが、 $-45^{\circ}\sim -35^{\circ}$ の範囲では、 5.32 ± 0.02 、 $35^{\circ}\sim 45^{\circ}$ の範囲では、 5.80 ± 0.07 と大きな値となった。よって、計測角度が正面から左に -35° を超え、右に 35° を超えると、MBR の変動係数が大きくなる可能性が推察された。そこで、計測角度を 0° と -30° 及び 30° の間で検討することとした。

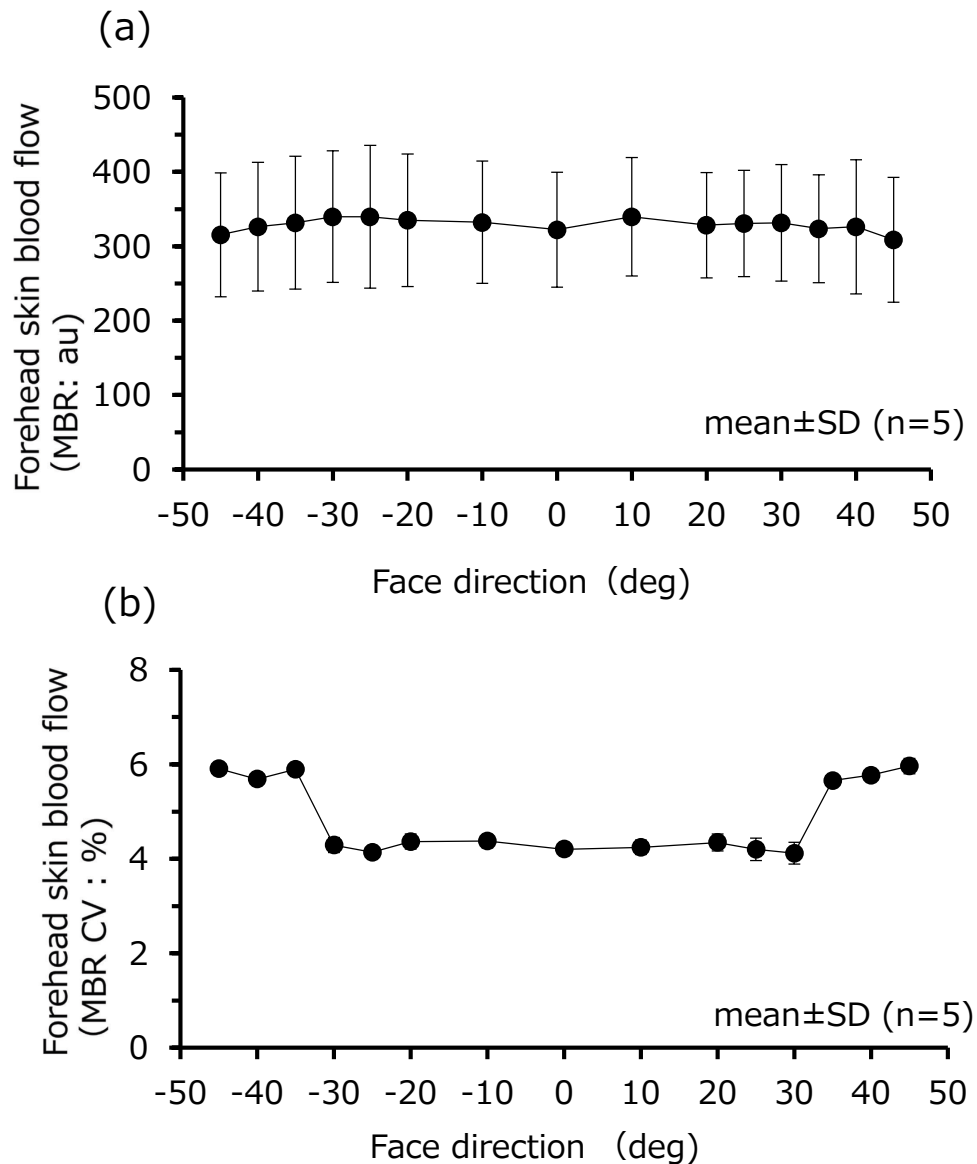


図 3.4 計測角度の違いによる皮膚血流の安定性

(a) 計測角度を左正面（-45°の角度）から右正面（45°の角度）まで変化させた時の前額部皮膚血流量（MBR）(b) 計測角度を左正面から右正面まで変化させた時の前額部皮膚血流量の安定性（CV: coefficient of variation）

図 3.5(a)と図 3.5(b)に示すように計測角度 0°と -30°及び 30°の間には、 $r^2 = 0.942$ 及び $r^2 = 0.925$ と有意な正の相関関係が認められ、同一計測部位（前額部）の MBR 値は、同等である可能性が示唆された。

表 3.2 では、測定角度 0°と-30°及び 0°と 30°の間による皮膚血流の信頼性を比較すると、加算誤差及び比例誤差が存在しないと判断され、LOA は、-64.3~72.4 [au] 及び-72.6~81.5 [au] となった。

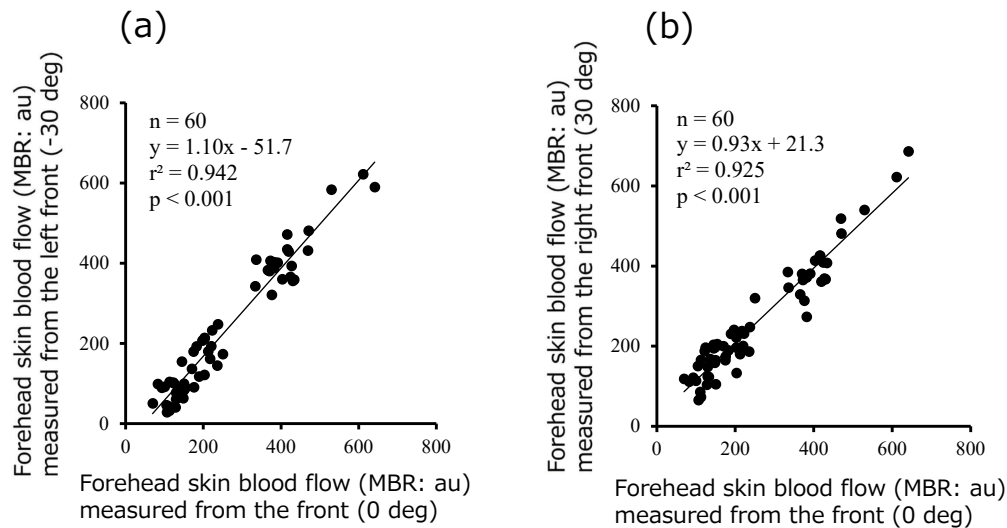


図 3.5 計測角度の違いによる皮膚血流量の安定性

28.3±3.53 歳の健常女性 60 名を対象に、(a) 前額部の正面 (0°) と左正面 (-30°) から 50cm の距離で計測した MBR 値の比較 (b) 前額部の正面 (0°) と右正面 (30°) から 50.0cm の距離で計測した MBR 値の比較

表 3.2 異なる計測角度の測定値変動に対する Bland-Altman 分析

	Bland-Altman analysis			
	LOA ^{*1}	Fixed bias	Proportional bias	
		95%CI ^{*2}	RC ^{*3}	P-value
C. Measured angle 0°[au] ^{*4}				
D. Measured angle -30°[au]				
E. Measured angle 30°[au]				
Mean of measurements at C and D ($\frac{C+D}{2}$)[au]	-64.3 ~ 72.4	-4.9 ~ 13.0	0.027	0.396
Difference of measurements at C and D (D-C) [au]				
Mean of measurements at C and E ($\frac{C+E}{2}$)[au]	-72.6 ~ 81.5	-5.6 ~ 14.5	-0.030	0.406
Difference of measurements at C and E (E-C) [au]				

略語 *1: 95%一致限界, *2: 95%信頼区間, *3: 回帰係数, *4: 任意単位

3.2.6 考察

LSFG の計測距離 50cm の水平画角は、 24° で $22\text{cm} \times 20\text{cm}$ である。本研究では、計測距離 50cm で、前額部 $0.9 \times 1.8\text{cm}$ (25×50 pixels) の計測部位を正面、正面から左に -30° 、及び正面から右に 30° 回転させて MBR を計測した結果、安定した計測値が得られた。しかし、凹凸のある鼻や顔面の端に位置する目尻などでは、計測視野が狭くなる可能性が考えられ今後の検討が必要であると思われる。

3.2.7 小括

50cm の計測距離では、顔面各部位が計測視野から外れない計測角度が -30° から 30° の範囲で、安定した皮膚血流量が計測できる。従って、この範囲では、実用上は、十分に応用できることが明らかとなった。

第4章 熱クリアランス法と LSFG との比較

本章では、既存の血流計測法である熱クリアランス法と LSFG を比較することで、本試作機が正確な皮膚血流量を計測できているかを調べた。

4.1 はじめに

皮膚温は、皮膚血流の指標と考えられるが、図 4.1(a)に示すように皮膚血流がある程度以上増加すると、皮膚温は、一定のレベルに達し、それ以上に増加しなくなるので、皮膚温から皮膚血流量を推定することはできなくなる²⁰。熱クリアランス法（Thermal diffusion method: TDM）は、図 4.1(b)に示すように皮膚組織の熱伝導率が、皮膚血流量と直線関係にあることに着目している²¹。Sakai らは、熱クリアランス曲線の傾きから過渡的に組織血流量を求める方法を考案した²²。我々は、この方法を応用して、LSFG が正確な皮膚血流量を計測できるか比較検討するために、非接触で 2 次元的に皮膚血流量を計測できるシステムを試作した。温度負荷をするのに遠赤外線ヒータを用い、皮膚温の計測には、サーモグラフィを用いることとした。

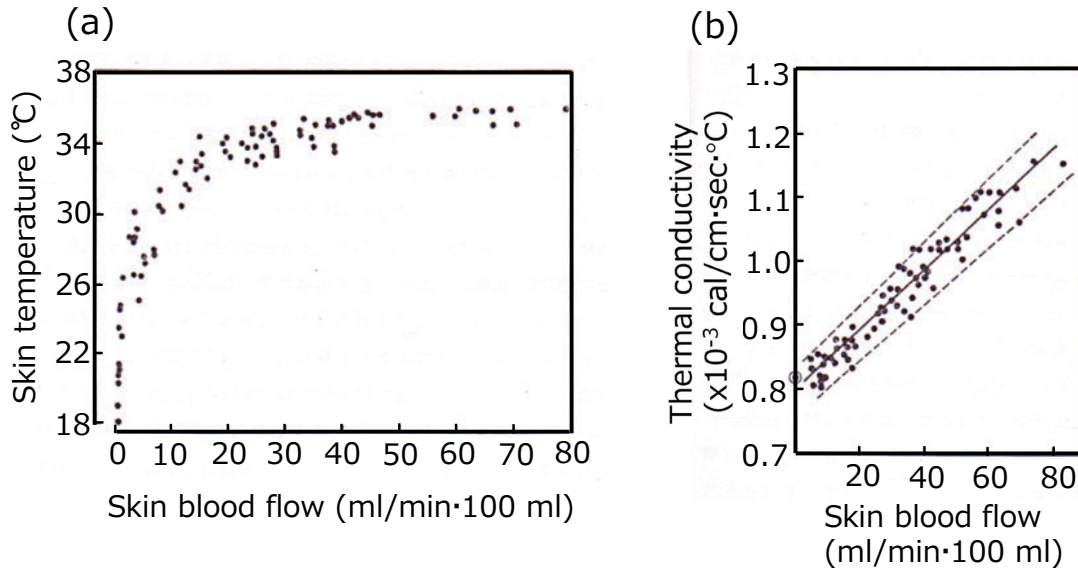


図 4.1 皮膚血流と皮膚温及び皮膚熱伝導率との関係

(a) 皮膚血流と皮膚温との関係：皮膚血流がある程度以上増加すると皮膚温は増加しない (b) 皮膚血流と皮膚熱伝導率との関係：線形性が認められる

4.2 TDM の理論式

熱のクリアランス曲線は、指数関数で近似され、ニュートンの冷却の法則（Newton's law of cooling）が適用できる。従って、任意の時間における電極先端の温度 $T(t)$ は、次式のように表わされる。

$$T(t) = T_0 \exp(-\alpha kt) \quad (4.1)$$

ただし、 T_0 は温度のピーク値、 k は熱伝導率、 α は定数、 t は時間である。

熱伝導率が既知の物質を用いて、 α を求めておく。Grayson の理論によれば、皮膚組織の熱伝導率と皮膚血流量は、比例関係にあることから²³、血液が流れている時の皮膚組織の熱伝導率は、

$$K = K_0 + \beta F \quad (4.2)$$

と表される。ただし、 K は血液が流れている時の皮膚組織の熱伝導率、 K_0 は血液が流れていない時の皮膚組織の熱伝導率、 β は変換定数、 F は皮膚血流量である。

温度のピーク値は、皮膚血流量によって変化するので、血液が流れている時の皮膚温を T_1 、血液が流れていない時の皮膚温を T_2 として、式(4.1)に式(4.2)を代入すると、皮膚血流量がある時の熱クリアランス方程式は、

$$T_1(t) = T_1 \exp(-\alpha(K_0 + \beta F)t) \quad (4.3)$$

となる。また、皮膚血流量がない時の熱クリアランス方程式は、

$$T_2(t) = T_2 \exp(-\alpha K_0 t) \quad (4.4)$$

である。式(4.3), (4.4)の両辺の対数をとると、それぞれ、

$$\log_e T_1(t) = \log_e T_1 - \alpha(K_0 + \beta F)t \quad (4.5)$$

$$\log_e T_2(t) = \log_e T_2 - \alpha K_0 t \quad (4.6)$$

となる。式(4.5), (4.6)の傾きを求めるため、それぞれの式の両辺を時間 t で微分すると、

$$\frac{d\log_e T_1(t)}{dt} = -\alpha(K_0 + \beta F) \quad (4.7)$$

$$\frac{d\log_e T_2(t)}{dt} = -\alpha K_0 \quad (4.8)$$

となるから、式(4.7), (4.8)より傾きの差は、

$$\frac{d\log_e T_1(t)}{dt} - \frac{d\log_e T_2(t)}{dt} = -\alpha\beta F \quad (4.9)$$

よって、

$$F = -\frac{1}{\alpha\beta} \left(\frac{d\log_e T_1(t)}{dt} - \frac{d\log_e T_2(t)}{dt} \right) \quad (4.10)$$

となる。つまり、皮膚血流量は、クリアランス曲線の傾きの差に比例することが、理論式から導かれた。従って、皮膚血流量 F が求められる。しかし、血液が流れていない時の皮膚温 T_2 を求めなければならない。四肢等では、マンシエットを巻き、加圧して血流を遮断することで、 T_2 を求めることが可能であるが、顔面では、 T_2 を求めることは困難である。そこで、予備試験として、前腕内側の T_2 を求めるために、上腕部に血圧測定用のマンシエットを巻き、300mmHg に加圧して、1 分間血流を遮断した時の T_2 を求めた。その結果、 T_2 は個人差が小さく一定の値を示した。また、猫の脳皮質でも、 T_2 は個体差が小さく一定の値であった²⁴。そこで、ある程度の誤差を容認するならば、顔面の皮膚血流量は、クリアランス曲線の傾き $\frac{d\log_e T_1(t)}{dt}$ に反比例すると考えた。

4.3 対象及び測定条件

20 代から 60 代までの健常女性 132 名（20 代（26.2±0.50 歳, n=36）, 30 代（31.6±0.18 歳, n=22）, 40 代（46.2±0.42 歳, n=43）, 50 代（50.6±0.28 歳, n=11）, 60 代（62.9±0.43 歳, n=20））を対象に室温 25.0℃、湿度 50.0%RH の環境下に、semi-supine（半仰臥位：リクライニングシートに座り、下肢を約 60°持ち上げ、シートを約 30°倒した状態）の姿勢で 30 分間馴化した。

TDM で導かれた式(4.10)から皮膚血流量は、熱クリアランス曲線の傾きに反比例することが示された。そこで、本実験で得られた皮膚温度変化を自然対数に取った傾きを皮膚血流量の指標とした。先ず、図 4.2(b)に示すように安静時の頬部皮膚温と頬部皮膚血流量を被験者から 50cm の距離で 5 分間測定した。次いで、図 4.2(a)に示すように遠赤外線ヒータを用いて、顔面に温熱負荷を 30 秒間与え、負荷後、輻射、伝導、及び対流による影響を避けるため、直ちに遠赤外線ヒータを取り除き、その直後から再度、図 4.2(b)に示すように頬部皮膚温と頬部皮膚血流量を 5 分間測定した。顔面皮膚温は、サーモグラフィ（TVS-700、NEC Avio Infrared Technologies Co., Ltd., Tokyo, Japan）を用いて、30 fps の条件で測定した。顔面皮膚血流量は、LSFG を用いて、30 fps (2:1 interlace) の条件で測定した。温熱負荷は、遠赤外線ヒータ（ERFT11KS, Daikin Industries, Ltd., Osaka, Japan）を用いて、温度強度を 5 に設定した。

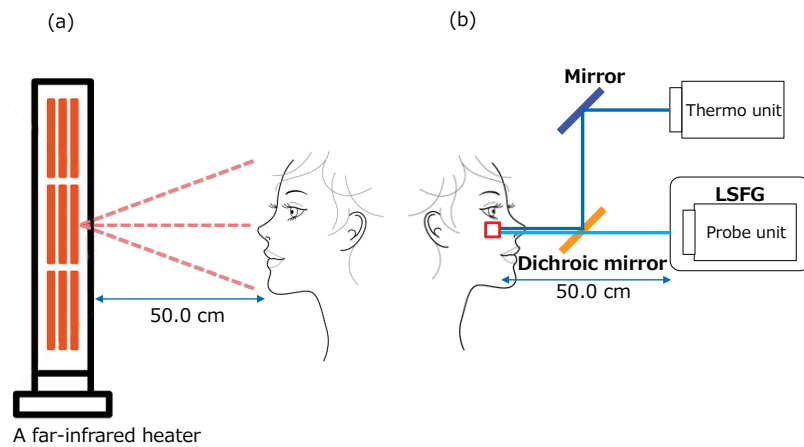


図 4.2 熱クリアランス法と LSFG の比較

(a) 顔面への温熱負荷：遠赤外線ヒータで顔面を 30 秒間温熱負荷 (b) 頬部皮膚温（サーモグラフィ）と頬部皮膚血流量（LSFG）を被験者から 50cm の距離で測定

4.4 解析方法

TDM では、被験者左側の頬部 2.3×3.0cm（横 30×縦 40 pixels）を 1 fps で re-sampling して、温熱負荷後 30 秒間のデータを最小二乗法による直線回帰を行い自然対数に取った傾きを求めた。

1.7 節で示した方法に従いマッピング画像を作成する。解析部位は、TDM と同様な部位（Rubber band の領域は、60×80 pixels）とした。温熱負荷後 30 秒間のマッピング画像から MBR 値を算出した。

4.5 統計解析

TDM で導かれた熱クリアランス曲線の傾き $\frac{d \log_e T_1(t)}{dt}$ [°C/sec] を独立変数とし、LSFG で計測した皮膚血流量の指標である MBR 値 [au] を従属変数として、グラフにプロットし散布図を描く。そして、まず、この 2 変数間の相関の程度を Pearson の積率相関係数（Pearson product-moment correlation coefficient）で評価する。次いで、単回帰分析（A simple linear regression analysis）を行い、これら独立変数の変量が、従属変数の分散を説明できるか（決定係数 R^2 ）で評価した。更に、1 要因の分散分析

対応あり (One-Way Repeated-Measures ANOVA) によって、回帰分析全体の有意性を検討した。回帰係数 (単回帰分析では、回帰係数と相関係数は等しい) と切片の有意性は、t 検定によって検討した。信頼性の検定では、絶対信頼性の評価に Bland-Altman 分析を用いた^{17, 18}。危険率 5%以下を有意差ありとした。

4.6 実験結果

遠赤外線ヒータを用いて、顔面に温熱負荷を 30 秒間与え、直ちに遠赤外線ヒータを取り除き、温熱負荷後の頬部における熱クリアランスの傾きを求めた。図 4.3(a)、図 4.4(a) に示すように顔面の皮膚血流が低い場合には、熱クリアランスの傾きの絶対値は小さくなる。一方、図 4.3(b)、図 4.4(b)に示す顔面の皮膚血流が高い場合には、熱クリアランスの傾きの絶対値は大きくなる。

既に計測法が確立されている TDM で計測した熱クリアランス法の傾き (温度負荷後の皮膚温度変化を自然対数にとった傾き) [Slope(°C/sec)]を独立変数とし、現在開発中の LSFG で計測した皮膚血流量の指標である MBR 値を従属変数として、図 4.5 に散布図を描いた。その結果、TDM で計測した熱クリアランス法の傾きと LSFG で計測した MBR 値の間には、直線的な関係 (線形関係) が仮定された。更に、最小二乗法により、直線の傾き (-6634) と切片 (202) を推定した。決定係数 R^2 は、0.790 となり、重相関係数は、0.889 となった。そこで、1 要因の分散分析対応ありによって、決定係数の有意性を検討した結果、 $F > F_{0.001}$ となり、決定係数の有意性を統計学的に認めた。更に、回帰係数と切片の有意性を t 検定によって検討した結果、 $t > t_{0.001}$ となり、回帰係数及び切片の有意性を統計学的に認めた。

従って、両計測法の間には、有意な負の相関関係が認められたことから、MBR 値は、皮膚血流量を示す指標として有効である可能性が示唆された。

表 4.1 では、TDM と LSFG の間による皮膚血流の信頼性を比較すると、加算誤差及び比例誤差が存在しないと判断され、LOA は、 $-89 \times 10^{-4} \sim 101 \times 10^{-4}$ [°C/sec] となった。

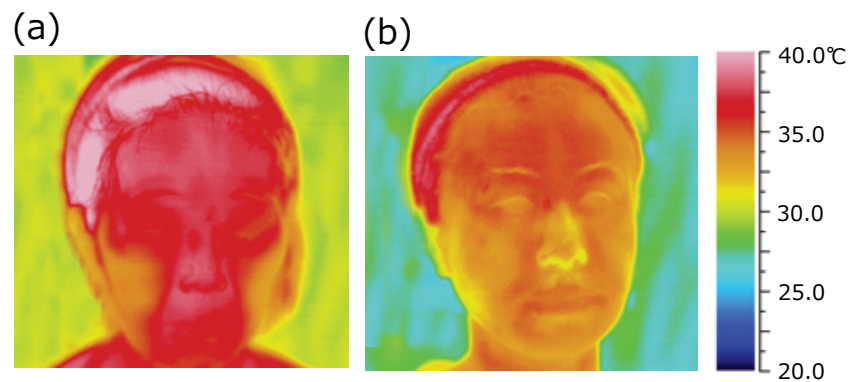


図 4.3 遠赤外線ヒータを用いて、顔面に温熱負荷した時のサーモグラフィ画像の典型例

(a) 顔面の皮膚血流が低い例 (b) 顔面の皮膚血流が高い例

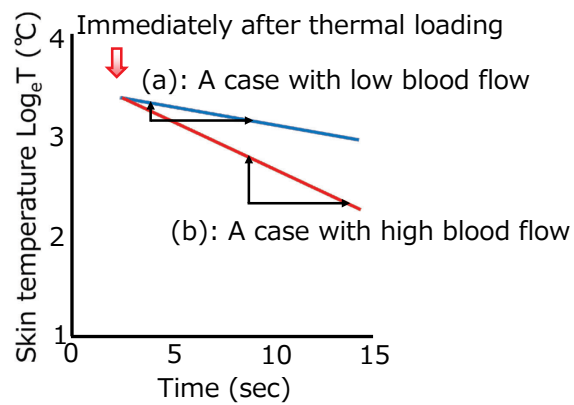


図 4.4 熱クリアランス法 (TDM) を使った顔面皮膚血流の典型例

(a) 顔面皮膚血流が低い例 (熱クリアランスの傾きの絶対値は小さい) (b) 顔面皮膚血流が高い例 (熱クリアランスの傾きの絶対値は大きい)

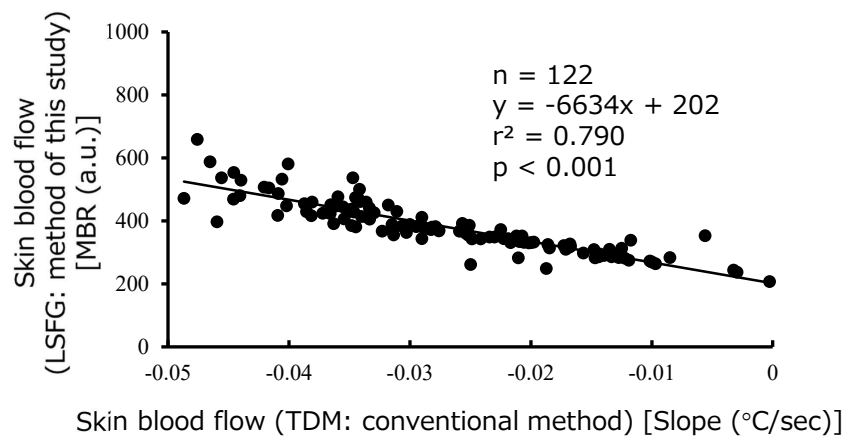


図 4.5 熱クリアランス法（TDM）の傾き（従来法）と LSFG の指標である MBR（本法）との関係

44.1± 38.9 歳の健康女性 122 名を対象に右頬部（縦 60×横 80pixels）皮膚血流を計測。横軸に TDM の傾き（温熱負荷後の皮膚温度変化を自然対数にとった傾き）、縦軸に安静時の LSFG の指標である MBR を示す。

表 4.1 熱クリアランス法（TDM）と LSFG の測定値変動に対する Bland-Altman 分析結果

	Bland-Altman analysis			
	LOA ^{*1}	Fixed bias	Proportional bias	
		95%CI ^{*2}	RC ^{*3}	P-value
F. TDM ^{*4} (°C/sec)				
G. LSFG ^{*5} (°C/sec)				
Mean of measurements at F and G ($\frac{F+G}{2}$) (°C/sec)	-89 ~ 101	-3 ~ 14	0.029	0.230
Difference of measurements at F and G (G-F) (°C/sec)	($\times 10^{-4}$)	($\times 10^{-4}$)		

略語 *1: 95%一致限界 *2: 95%信頼区間 *3: 回帰係数 *4: 熱クリアランス法 *5:レーザースペックルフローグラフィー

4.7 考察

血流計測法として確立されている熱勾配式熱クリアランス法（Thermal Diffusion Method : TDM）²⁰⁻²²と LSFG を使って、顔面頬部皮膚血流を 2 次元空間で走査周期を合わせて比較し、相関性を検証した。熱クリアランス法の傾きは、皮膚血流量と反比例の関係にあることが、Grayson の理論²³によって、明らかにされている。よって、LSFG の MBR 値は、皮膚血流量を示す指標として有効である可能性が示唆された。

4.8 小括

遠赤外線ヒータを用いて、顔面に温熱負荷与え、温熱負荷後の熱クリアランスの傾きを求めた。その結果、熱クリアランス法の傾きは、MBR 値と有意な負の相関関係が認められた。クリアランス法の傾きは、皮膚血流量と反比例の関係にあることが、Grayson の理論によって、明らかにされていることから、LSFG の MBR 値は、皮膚血流量を示す指標として有効である可能性が示唆された。

第5章 ストレインゲージプレチスモグラフと LSFG との比較

本章では、皮膚血流量の絶対値計測が可能で、既に計測法が確立されているストレインゲージプレチスモグラフと LSFG を比較することで、本試作機が正確な皮膚血流量を計測できているかを調べた。

5.1 はじめに

ストレインゲージプレチスモグラフ (Strain-gauge plethysmography: SPG) (EC-5R, D.E. Hokanson Inc., Washington, USA) は、手指尖部から還流する静脈血を静脈閉塞用カフ (圧迫帯) で圧迫して、手指尖部の容積が動脈血の流入に伴って増加する変化をストレインゲージ (指用センサー) によって検出する (手指尖部の周の長さ変化を電気抵抗変化として検出) 方法である²⁵。無侵襲で手指尖部の容積変化から、皮膚組織の血流量を間欠的に絶対値計測が可能な計測法で、有用性が確立されている²⁶。

図 5.1 に示すように第 1 相は、静脈閉塞直後から約 20 秒間に起こる変化であり、静脈還流量は、完全に零であるが、動脈血の流入は阻害されない。つまり、このわずかな時期の単位時間当たりの容積増加分が正しい動脈血流量を表している。このように、静脈閉塞プレチスモグラフを用いる時は、第 1 相の容積変化で正しく血流量が測定できる。

そこで、皮膚血流量の絶対値計測が可能で、既に計測法が確立されている SPG で計測した皮膚血流量と LSFG で計測した皮膚血流量の指標である MBR 値を比較することで、LSFG が正確な皮膚血流量を計測できるか検討を加える。

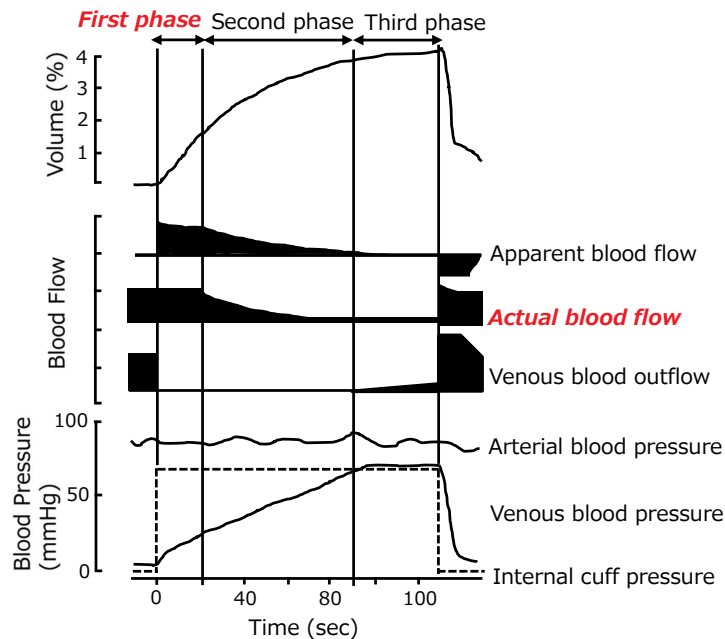


図 5.1 静脈閉塞に伴う容積及び血流量の関係

第 1 相の容積増加率が血流量を表す。(Greenfield and Patterson 1954)

5.2 対象及び測定条件

20 代の健常男性 (23.3 ± 0.39 歳, $n=30$) 及び女性 (23.8 ± 0.49 歳, $n=30$) 計 60 名を対象に室温 25.0°C 、湿度 $50.0\%\text{RH}$ の環境下に、semi-supine (半仰臥位：リクライニングシートに座り、下肢を約 60° 持ち上げ、シートを約 30° 倒した状態) の姿勢で 30 分間馴化させた。

LSFG の測定は、図 5.2(a)で示すように、非利き腕の第 3 指腹側第三関節 (中指の手の平側の第三関節) をプローブユニットから 25cm 離れた机の上に置き、プローブユニットとは非接触で皮膚血流を計測する。計測方法は、30fps (2:1interlace) の条件で、インターバル法により、5 秒間計測し、10 秒間空けて、5 秒間計測し、再度 10 秒間空けて、5 秒間計測する 1 サイクルを行う。3 分間安静にして、再度、前述の 1 サイクルを行う。SPG の測定は、図 5.2(b)で示すように非利き腕の第 3 指腹側第三関節 (中指の手の平側の第三関節) にセンサー (ストレンゲージ) を装着し、同側の上腕にカフを巻き付け、皮膚血流を測定する。1%のキャリブレーション信号 [$0.1\text{ml}/\text{min} \cdot 100\text{g tissue}$]を送ってから、安静の定常状態を 15 秒間計測し、上腕カフの圧力を瞬時加圧器 (Rapid Cuff Inflator、Biomedical Science Laboratory、Ishikawa、Japan) を使って、

50mmHg に加圧して、測定部位の静脈を閉塞させ、30 秒後に（測定部位の動脈流入量曲線が一定になったら（チャート紙の波形がプラトーになったら）、加圧を解除し、15 秒後に測定を止める。3 分間安静にして、再度、前述の方法で、計測する。更に、3 分間安静にして、最後に再度、前述の方法で、計測する。

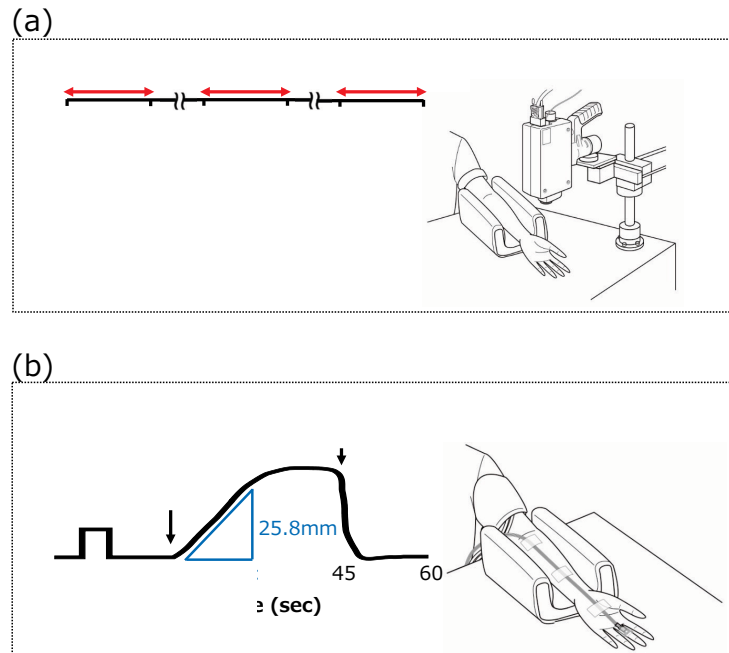


図 5.2 SPG（従来法）と LSFG（本法）との皮膚血流計測プロトコル

被験者非利き腕の第 3 指腹側第三関節（中指の手の平側の第三関節）の皮膚血流を計測。(a) LSFG による計測プロトコル：10 秒間のインターバルで 5 秒間の皮膚血流計測を 3 回繰り返す、3 分間の安静後、再度同様な計測を行う (b) SPG による計測プロトコル：1%のキャリブレーション信号を記録し、15 秒後に上腕を 50mmHg に加圧し静脈閉塞させ、30 秒後に加圧を除去し、15 秒後に測定を止め、3 分間の安静をとる。この測定サイクルを合計 3 回繰り返す。この場合の皮膚血流量は、下記のように算出できる。

$$\left(60\text{sec} \times 25.8\text{mm} / 8.4\text{sec}\right) \times \left\{1(\text{ml}/(\text{min} \cdot 100\text{g})) / 10\text{mm}\right\} = 18.4(\text{ml}/(\text{min} \cdot 100\text{g}))$$

5.3 解析方法

1.7 節で示した方法に従いマッピング画像を作成する。解析部位は、非利き腕の第 3 指腹側第三関節の外周を取り囲むように（Rubber band の楕円領域は、20×40 pixels）設定した。3 回計測した 5 秒間のマッピング画像から MBR 値を算出した。

SPG では、0.1%のキャリブレーション信号 [0.1ml/min・100g tissue] の高さをチャート紙からメジャーで計測する。静脈閉塞を開始して、直後の立ち上がり部分の脈波に接線を引き、その傾きから血流量を算出する。

5.4 統計解析

SPG で計測した皮膚血流量[ml/(min・100g)]を独立変数とし、現在開発中の LSFG で計測した皮膚血流量の指標である MBR 値 [au] を従属変数として、グラフにプロットし散布図を描く。そして、まず、この 2 変数間の相関の程度を Pearson の積率相関係数 (Pearson product-moment correlation coefficient) で評価する。次いで、単回帰分析 (A simple linear regression analysis) を行い、これら独立変数の変量が、MBR 値の分散を説明できるか (決定係数 R^2) で評価した。更に、1 要因の分散分析対応あり (One-Way Repeated-Measures ANOVA) によって、回帰分析全体の有意性を検討した。回帰係数 (単回帰分析では、回帰係数と相関係数は等しい) と切片の有意性は、t 検定によって検討した。信頼性の検定では、絶対信頼性の評価に Bland-Altman 分析を用いた^{17, 18}。危険率 5%以下を有意差ありとした。

5.5 実験結果

皮膚血流量の絶対値計測が可能で、既に計測法が確立されている SPG で計測した皮膚血流量を独立変数とし、現在開発中の LSFG で計測した皮膚血流量の指標である MBR 値を従属変数として、図 5.3 に散布図を描いた。その結果、SPG で計測した皮膚血流量と LSFG で計測した MBR 値の間には、直線的な関係 (線形関係) が仮定された。更に、最小二乗法により、直線の傾き (41.6) と切片 (-14.4) を推定した。決定係数 R^2 は、0.980 となり、重相関係数は、0.990 となった。そこで、1 要因の分散分析対応ありによって、決定係数の有意性を検討した結果、 $F > F_{0.001}$ となり、決定係数の有意性を統計学的に認めた。更に、回帰係数と切片の有意性を t 検定によって検討した結果、 $t > t_{0.005}$ となり、回帰係数及び切片の有意性を統計学的に認めた。

従って、両計測法の間には、有意な正の相関関係が認められ、LSFG の MBR 値は、皮膚血流量を示す指標として有効である可能性が示唆された。なお、本実験結果の概要は、Biophotonics Japan 2015 で報告している²⁷。

SPG は、計測部位から還流する静脈血を加圧して静脈閉塞し、計測部位の容積が動脈血の流入に伴って増加する変化を検出する方法なので、計測部位が四肢に限定され、連続計測ができない。一方、LSFG は、非侵襲で、連続的に部位を限定されことなく皮膚血流を計測できることから、その有用が今後期待される。

表 5.1 では、SPG と LSFG の間よる皮膚血流の信頼性を比較すると、加算誤差及び比例誤差が存在しないと判断され、LOA は、 $-1.51 \sim 1.51$ [ml/(min \cdot 100g)] となった。

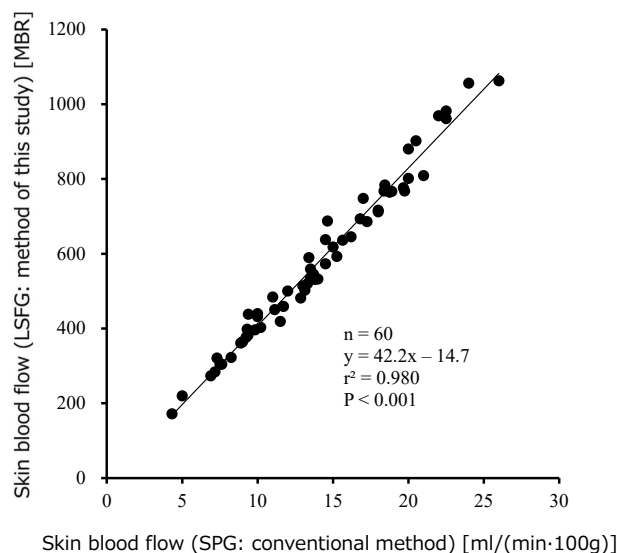


図 5.3 SPG (従来法)の皮膚血流量と LSFG の指標である MBR (本法)との関係

被験者非利き腕の第 3 指腹側第三関節（中指の手の平側の第三関節）の皮膚血流を計測。横軸に SPG で測定した皮膚血流量 [ml/(min \cdot 100g)]、縦軸に安静時の LSFG の指標である MBR を示す。

表 5.1 ストレインゲージプレチスモグラフ (SPG) と LSFG の測定値変動に対する Bland-Altman 分析結果

	LOA ^{*1}	Bland-Altman analysis		
		Fixed bias	Proportional bias	
		95%CI ^{*2}	RC ^{*3}	P-value
H. SPG ^{*4} [ml/(min・100g)]				
I. LSFG ^{*5} [ml/(min・100g)]				
Mean of measurements at H and I ($\frac{H+I}{2}$) [ml/(min・100g)]	-1.51 ~ 1.51	-0.20 ~ 0.20	0.012	0.564
Difference of measurements at H and I (I-H) [ml/(min・100g)]				

略語 *1: 95%一致限界 *2: 95%信頼区間 *3: 回帰係数 *4: ストレインゲージプレチスモグラフ *5:レーザースペックルフローグラフィ

5.6 考察

SPG は、計測部位から還流する静脈血を加圧して静脈閉塞し、計測部位の容積が動脈血の流入に伴って増加する変化を検出する方法²⁵なので、計測部位が四肢に限定され、連続計測ができない。この SPG を使って前腕部の血流量を計測すると、筋血流量と皮膚血流量の和を計測することになる。本研究で SPG の計測部位を指にしたのは、指の伸縮に必要な筋成分が、指にはほとんどなく、手掌や前腕に分布しているからである^{28,29}。よって、SPG で指の血流量を計測すれば、指の皮膚血流量だけが計測できる。LSFG と SPG の間には、有意な正の相関関係が認められ、LSFG の MBR 値は、皮膚血流量を示す指標として有効である可能性が示唆された。LSFG は、非侵襲で、連続的に部位を限定されことなく皮膚血流を計測できることから、その有用性が期待される。

5.7 小括

皮膚血流量の絶対値計測が可能で、既に計測法が確立されている SPG で計測した皮膚血流量と LSFG で計測した皮膚血流量の指標である MBR 値との間には、有意な正の相関関係が認められた。従って、LSFG の MBR 値は、皮膚血流量を示す指標として有効である可能性が示唆された。

第6章 LSFG の皮膚血流指標と年齢との関係

本章では、LSFG の応用例として、LSFG の血流指標と加齢との関係について検討した。

6.1 はじめに

顔面皮膚血流量の加齢変化についての報告は、測定機器、負荷方法、計測部位、及び被検者数の違いによって、結果が必ずしも一致していない³⁰⁻³⁴。そこで、本研究では、LSFG の応用例として、一心拍時間で正規化した顔面皮膚血流量 MBR を基に皮膚血流に特化した血流波形指標を作成し、頬部皮膚血流の加齢による影響について検討を加える。

6.2 対象及び測定条件

健常女性 182 名（平均年齢 46.6 ± 15.1 歳、20 代 24.5 ± 3.1 歳（ $n=31$ ）、30 代 34.2 ± 3.3 歳（ $n=33$ ）、40 代 44.6 ± 3.0 歳（ $n=36$ ）、50 代 54.4 ± 2.9 歳（ $n=35$ ）、60 代 64.1 ± 2.6 歳（ $n=39$ ）、70 代 72.3 ± 1.8 歳（ $n=8$ ））を対象に実施した。LSFG の測定は、室温 24.0°C 、湿度 $40.0\%\text{RH}$ の環境下に、semi-supine の姿勢（半仰臥位：リクライニングシートに座り、下肢を約 60° 持ち上げ、シートを約 30° 倒した状態）で、15 分間馴化した。そして、頭部を固定し、右頬部をプローブユニットから 50cm 離して、正面から皮膚血流を計測する。計測記録は、30 fps (2:1 interlace) の条件で、連続測定法により、5 分間計測を行う。

6.3 解析方法

1.7 節で示した方法に従いマッピング画像を作成する。解析部位は、図 1.6(e)の⑦に示す右頬部で、UV 座標で表すと 4 頂点 (300, 200)、(359, 219)、(300, 269)、及び (359, 269) で囲まれた Rubber band とした。安静時 5 分間のマッピング画像から血流指標である MBR 値を算出した。図 6.1(a)には、一心拍時間で正規化した顔面頬

部皮膚血流量 MBR を、また図 6.1(b)には、一心拍時間で正規化したその MBR の割合を示す。更に、図 6.1(c)には、(b)の Rising phase を、図 6.1(d)には、(b)の Falling phase を示す。

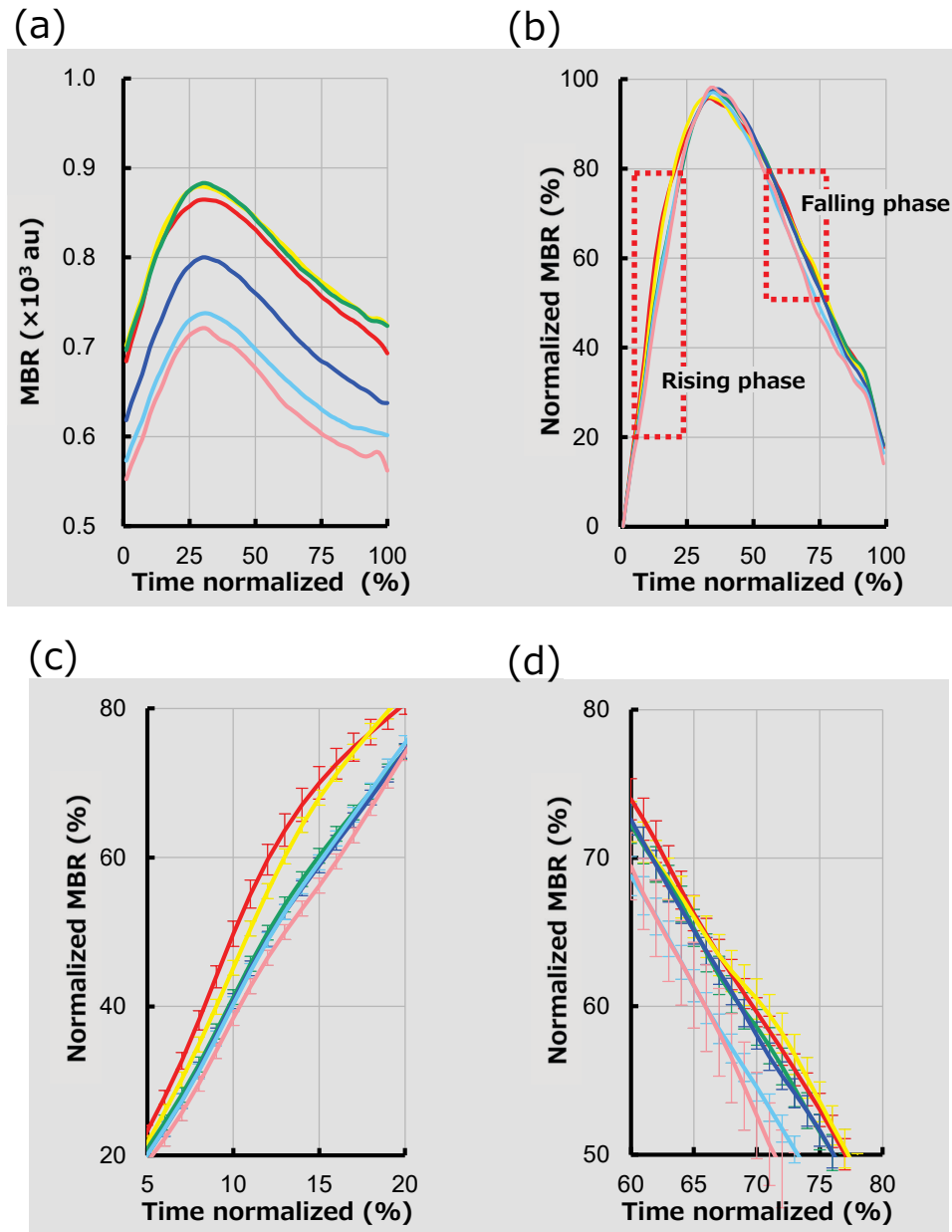


図 6.1 一心拍時間で正規化した顔面頬部皮膚血流量 MBR の加齢変化

—: 20代 24.5 ± 3.1 歳 ($n=31$)、—: 30代 34.2 ± 3.3 歳 ($n=33$)、—: 40代 44.6 ± 3.0 歳 ($n=36$)、
 —: 50代 54.4 ± 2.9 歳 ($n=35$)、—: 60代 64.1 ± 2.6 歳 ($n=39$)、—: 70代 72.3 ± 1.8 歳 ($n=8$)、
 (a) 一心拍時間で正規化した顔面頬部皮膚血流量 MBR と加齢との関係 (b) 一心拍時間で正規化したその
 MBR の割合と加齢との関係 (c) b の Rising phase と加齢との関係 (d) b の Falling phase と加齢との関係
 データは平均値 \pm 標準誤差で示す。

この図 6.1 を基に皮膚血流に特化した血流波形指標を作成した。CVR (Cutaneous Vascular Resistance: 皮膚血管抵抗を表わす指標) は、拍動ごとの平均血圧を MBR で除して算出した式(6.1)で表される。

$$CVR = \frac{\text{Mean Blood Pressure}}{MBR} \quad (6.1)$$

FAI (Flow Acceleration Index : 血流の加速度を表わす指標) は、図 6.2(a)に示すように増加する MBR の最大変化量を算出し、血流を短時間に増加させる瞬発的な力を指標化している。BOT (Blowout Time : 高い血流量の持続性を表わす指標) は、図 6.2(b)に示すように MBR の半値幅の時間と 1 心拍の時間の比で算出した式で表される³⁵。Falling rate (血流量の下降速度の時間変動を表わす指標) は、図 6.2(c)に示すように心拍波形の下降領域の形状に着目し、ピークを境に波形の後半領域の面積比で表される。

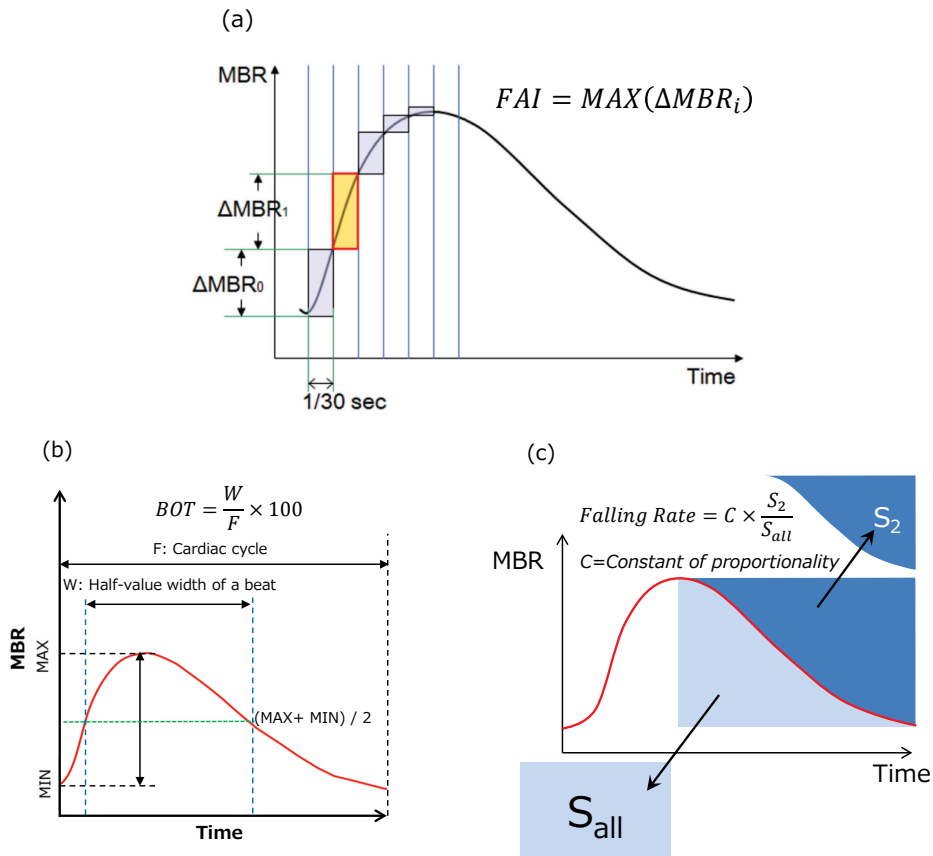


図 6.2 血流波形指標の説明

(a) FAI (Flow Acceleration Index : 血流の加速度を表わす指標) (b) BOT (Blowout time : 高い血流量の持続性を表わす指標) (c) Falling Rate (血流量の下降速度の時間変動を表わす指標)

6.4 統計解析

LSFG の血流指標と加齢に関する試験では、年齢を独立変数とし、LSFG で計測した皮膚血流量の指標である MBR [au]、CVR [mmHg/au]、FAI [au]、BOT、及び Falling rate を従属変数とした。そして、まず、この 2 変数間の相関の程度を Pearson の積率相関係数 (Pearson product-moment correlation coefficient) で評価する。次いで、単回帰分析 (A simple linear regression analysis) を行い、独立変数の変量が、従属変数の分散を説明できるか (決定係数 R^2) で評価した。更に、1 要因の分散分析対応あり (One-Way Repeated-Measures ANOVA) によって、回帰分析全体の有意性を検討した。回帰係数 (単回帰分析では、回帰係数と相関係数は等しい) と切片の有意性は、t 検定によって検討した。

6.5 実験結果

年齢を独立変数とし、LSFG で計測した組織血流量の指標である MBR [au] を従属変数として、図 6.3(a)に散布図を描いた。その結果、年齢と MBR の間には、直線的な関係 (線形関係) が仮定された。更に、最小二乗法により、直線の傾き (-3.84) と切片 (937) を推定した。決定係数 R^2 は、0.059 となり、重相関係数は、-0.242 となった。そこで、1 要因の分散分析対応ありによって、決定係数の有意性を検討した結果、 $F > F_{0.001}$ となり、決定係数の有意性を統計学的に認めた。更に、回帰係数と切片の有意性を t 検定によって検討した結果、 $t > t_{0.001}$ となり、回帰係数及び切片の有意性を統計学的に認めた。従って、MBR と年齢との間には、有意な負の相関関係が認められた。更に年齢を独立変数とし、LSFG で計測した血流指標である CVR、FAI、BOT、及び Falling rate をそれぞれ従属変数として、図 6.3 及び図 6.4 に散布図を描いた。その結果、年齢と各血流指標の間には、線形関係が仮定された。そこで、1 要因の分散分析対応ありによって、決定係数の有意性を検討した結果、 $F > F_{0.001}$ となり、決定係数の有意性を統計学的に認めた。更に、回帰係数と切片の有意性を t 検定によって検討した結果、 $t > t_{0.001}$ となり、回帰係数及び切片の有意性を統計学的に認めた。従って、LSFG で計測した血流

指標である FAI 及び BOT と年齢との間には、有意な負の相関関係が、CVR 及び Falling rate と年齢との間には、有意な正の相関関係が認められた。

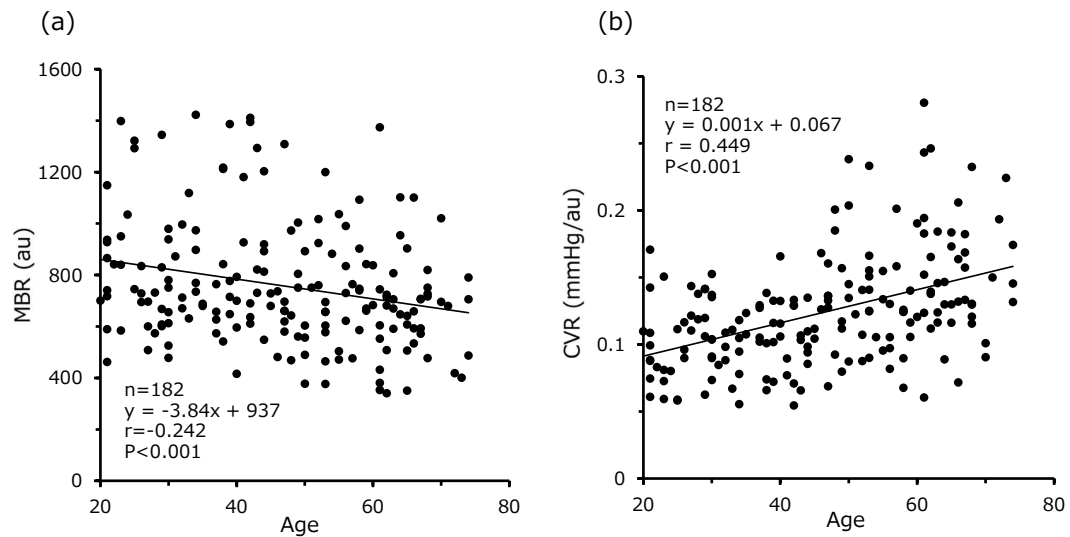


図 6.3 頬部皮膚血流量の指標と年齢との関係 (1)

対象：20 代から 70 代の健常女性 182 名（平均年齢 46.6 ± 15.1 歳） (a) MBR（mean blur rate：組織血流量の指標）と年齢との関係 (b) CVR（Cutaneous Vascular Resistance：皮膚血管抵抗を表わす指標）と年齢との関係

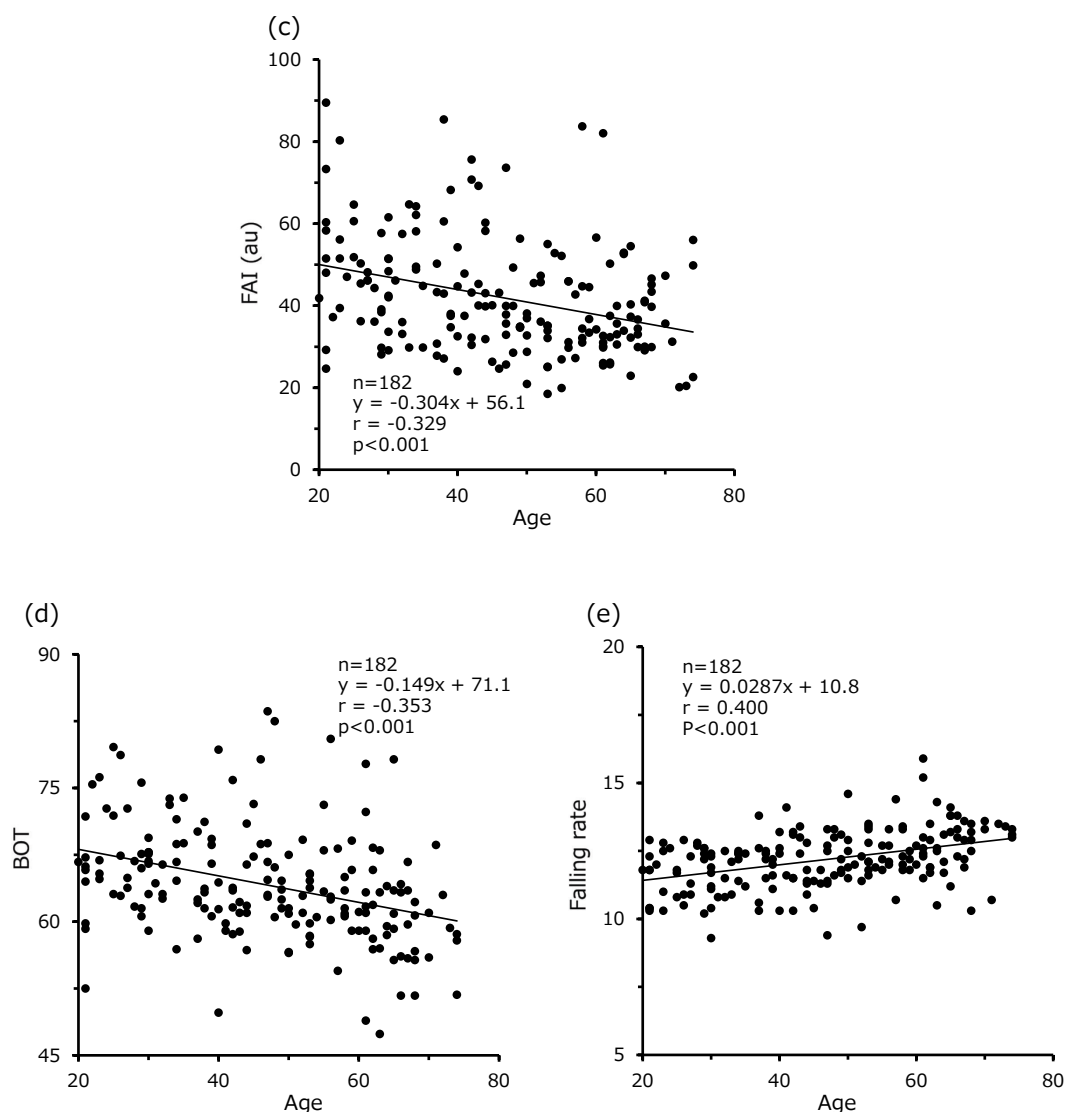


図 6.4 頬部皮膚血流量の指標と年齢との関係 (2)

対象：20 代から 70 代の健常女性 182 名（平均年齢 46.6 ± 15.1 歳） (c) FAI（Flow Acceleration Index：血流の加速度を表わす指標）と年齢との関係 (d) BOT（Blowout time：高い血流量の持続性を表わす指標）と年齢との関係 (e) Falling rate（血流量の下降速度の時間変動を表わす指標）と年齢との関係

6.6 考察

Laser Doppler flowmetry を使った顔面皮膚血流量の加齢変化についての報告では、被験者の人数が少ないためか加齢による有意な差を認めていない結果³⁰、皮膚血流量の高い部位では、加齢により有意に皮膚血流量が減少するのを認めている結果³¹、温熱負荷による血管拡張反応は、加齢により有意に弱められている（be blunted）結果

³²、冷却負荷による血管収縮反応は、加齢により有意に弱められている (be less) 結果³³ の報告がある。我々が開発した温度負荷装置を装備した接触式加算レーザードップラー血流計 (Integration-type laser-Doppler flowmeter with a temperature-loading instrument) の応用では、前額部は、冷却負荷により皮膚血流量の減少率 (FDR) は、加齢により顕著な変化を認めなかったが、減少速度 (S_{fall}) は、明らかに低下した¹。また、immunohistochemical method を使った研究では、光に暴露された部位 (photo-exposed areas) では、加齢により皮膚血流量が有意に減少するのを認める結果がある³³。本研究では、一心拍時間で正規化した顔面頬部皮膚血流量 MBR を基に皮膚血流に特化した血流波形指標を作成し年齢との関係について検討した結果、健康女性の頬部皮膚血流は、加齢と共に①末梢血管抵抗が高まり (CVR)、皮膚組織への②血液の流入が抑制され (FAI)、③血流量がピークに達してから急激に低下するので (Falling rate)、④皮膚組織に血流量を維持する能力が低下している (BOT) 可能性が示唆された。

6.7 小括

一心拍時間で正規化した顔面皮膚血流量 MBR を基に皮膚血流に特化した血流波形指標を作成した結果、加齢と共に末梢血管抵抗が高まり、皮膚組織への血液の流入が抑制され、血流量がピークに達してから急激に低下するので皮膚組織に血流量を維持する能力が低下している可能性が示唆された。

第7章 LSFG の皮膚血流指標と皮膚性状との関係

本章では、LSFG の別の応用例として、LSFG の血流指標と、皮膚色、皮表角層水分量、皮膚弾性、経皮水分蒸散量などの皮膚性状との関係について検討した。

7.1 はじめに

ヒトの身体全体を覆う皮膚は、成人で面積が 1.6m^2 、重量では体重の約 16%を占める人体で最大の臓器である³⁶。外界と直接触れるため、①体の内と外を分け、外部からの刺激から体内の水分や諸器官を守る【**バリア機能**】、②皮脂や汗を分泌して老廃物を排出する【**分泌・排出機能**】、③表皮や毛穴を通して外界から薬剤などを吸収する【**経皮吸収機能**】、④外部の温度を伝わりにくすると同時に、体温を一定に保つよう調節する【**体温調節機能**】、⑤複数の感覚器が、触・圧・痛・温・冷などの外界の刺激を脳に伝える【**感覚機能**】、⑥侵入した異物や細菌などを排除して、体を守る【**免疫機能**】など、生命を維持するための必要不可欠な様々な機能を持っている。皮膚組織を断面で観察すると、図 7.1 に示すような表皮、真皮、及び皮下組織からなっている³⁷。皮膚血管は、図 7.2 に示すように真皮全体に分布し、皮下組織にある動脈や静脈に繋がっている³⁸。毛細血管は、表皮の基底細胞や真皮の線維芽細胞などに栄養、酸素、水分などを届け、老廃物や二酸化炭素を運び去る働きをしている。また、皮膚血管は、体温調節にも働く。暑くなると拡張し、血液を多く流して、体外へ熱を逃がそうとする。逆に、寒くなると収縮し、体表の血液を少なくして熱が逃げるのを防ぐ。このような生理機能は、皮膚血行動態によって調節されており、皮膚生理機能（肌状態）にも多大な影響を与えていることが考えられる。

そこで、本試作機の応用として、一心拍時間で正規化した顔面皮膚血流量 MBR を基に皮膚血流に特化した血流波形指標を作成し、頬部皮膚性状との関係について検討を加える。

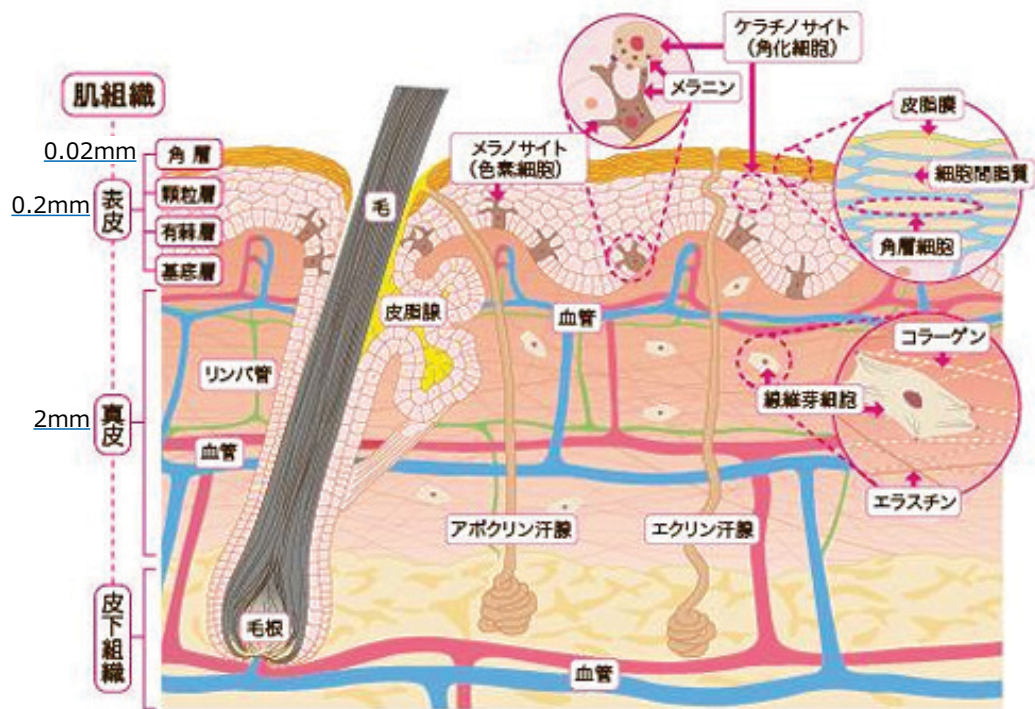


図 7.1 皮膚の構造³⁷

皮膚組織を断面から観察すると表皮、真皮、及び皮下組織の 3 層構造をとっていることがわかる。角層、表皮、及び真皮の厚さは、それぞれ約 0.02mm、0.2mm、及び 2mm である。

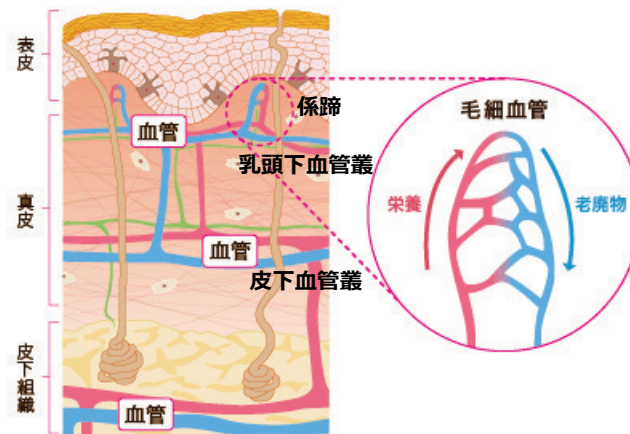


図 7.2 皮膚血管³⁸

真皮全体に下から皮下血管叢、乳頭下血管叢、係蹄と分布し、皮下組織にある動脈や静脈と繋がっている。

7.2 対象及び測定条件

LSFG の血流指標と皮膚性状に関する試験では、健常女性 40 名 (30.1 ± 2.01 歳) を対象に実施した。LSFG の測定は、室温 24.0°C 、湿度 $40.0\%\text{RH}$ の環境下に、semi-supine の姿勢（半仰臥位：リクライニングシートに座り、下肢を約 60° 持ち上げ、シートを約 30° 倒した状態）で、15 分間馴化した。そして、頭部を固定し、右頬部をプローブユニットから 50cm 離して、正面から皮膚血流を計測する。計測記録は、30fps (2:1interlace) の条件で、連続測定法により、30 秒間計測を行う。

皮表角層水分量の測定は、Impedance meter (SKICON-200EX, YAYOI. CO., LTD, Tokyo, Japan) のセンサーを一定の圧力で数秒間右頬部に当てて測定する。皮表角層水分量は、角層に含まれる水分量のこと、健康な角層では、角層重量あたり約 20~30% の水分が含まれるが、外界の環境湿度や角層の状態によって大きく変動する。約 70% ほどの水分が含まれる生体内に比べて、生体外は極めて乾燥した環境に置かれている。生体の水分の喪失を制御しているのが角層である。角層の深部には生体内と同等の水分が含まれるが、表層に向かうに従ってその水分量は徐々に減少し約 20~30% となる。Impedance meter は、高周波電流法により、3.5MHz 程度の高周波電流を皮膚表面に流し、皮表コンダクタンスを測定する。皮表の水分量が多いほど、測定値が高くなることを利用した機器である³⁹。

皮膚色 a^* 値（正の値は赤方向）の測定は、分光測色計 (CM-2002, Minolta Co., Tokyo, Japan) を用いて、右頬部を測定値とした。皮膚色の色調に関与する因子として、メラニン (Melanin)、ヘモグロビン (Hemoglobin)、及びカロチン (Carotene) などがあり、人種、年齢、及び個人差が大きく、更に、健康状態やストレスなどの情動によっても変化する。Melanin の主な働きは、有害な紫外線から皮膚を防御することであり、基底層付近にあるケラチノサイト (Keratinocyte) の細胞核の上に帽子状の Melanin が集まり（核上帽：Melanin cap）、細胞核を紫外線から守っている。ヘモグロビン (Hemoglobin: Hb) は、血液中に見られる赤血球の中に存在するタンパク質である。酸素分子と結合する性質を持ち、肺から全身へと酸素を運搬する役割を担っている。赤色素であるヘム (Heme) を持っているため赤色を帯びている。静脈血中の還元型デオキシヘモグロビン (Deoxyhemoglobin: Deoxy Hb) は蒼紅色を示し、これに 4 分子の酸素

が結合した動脈血中の酸化型オキシヘモグロビン (Oxyhemoglobin: Oxy Hb) は鮮紅色をしている。皮表近くに毛細血管が分布している顔面では、Hb の紅色が顔色に大きく関与している。うっ血により顔色が赤黒い場合には、Deoxy Hb の割合が増加したと考えられる。Carotene は、カロテノイド (Carotenoid) 色素の一種であり、血中 Carotenoid は角層に沈着しやすく、角層の厚い部位や皮下組織に特有の黄色を示す。皮膚の黄色は、主に Carotene に由来する。分光測色計は、表色系における測色値と共に分光反射率特性を計測することができる。CIE $L^*a^*b^*$ 表色系⁴⁰は、知覚的に等色差性をもった表色系であり、三刺激値 X、Y、Z から変換することができる。 $L^*a^*b^*$ 表色系では、明度を L^* 、色相と彩度を示す色度を a^* 、 b^* (a^* 、 b^* は色の方向を示しており、 a^* は赤方向、 $-a^*$ は緑方向、そして b^* は黄方向、 $-b^*$ は青方向を示す) で表す。

皮膚弾性 (U_r/U_f) の測定は、Suction cup 法により弾力計 (Cutometer MPA580, Courage & Khazaka, Germany) を用いて、右頬部をプローブに接触させ、400hPa の陰圧を 2 秒間加えた後に解除し、陰圧をかけている 2 秒間と解除後の 2 秒間にプローブ開口部内へ吸引される皮膚の高さ (皮膚の隆起) の時間変化を測定した。皮膚の柔らかさやしなやかさは、角層の状態と真皮の構造に関係することが知られている。角層が加齢により重層化することで皮膚は硬直化する。乾燥や肌荒れによって角層の水分量が減少しても柔軟性は失われる。また、真皮ではコラーゲン線維とエラスチン線維が規則正しい網目を形成しており、大量の水分を保持できる基質部分が埋め込まれていることで皮膚の弾力性やはりが保たれている。しかし、加齢や光老化が進むと、コラーゲン線維の硬直化とエラスチン線維の変性が生じ、基質もその水分保持力が低下するので、皮膚は柔軟性を失う。皮膚力学特性は、皮膚の柔らかさや硬さなどの感触、はりやたるみなどを評価するのに重要である。Suction cup 法による弾力計は、センサー内部を減圧して隆起した皮膚の高さから力学特性を調べる cutometer が一般的に広く用いられている⁴¹。減圧状態を保ち、その後、開放したときの時間に対する変位曲線から多くのパラメーターが測定できる。図 7.3 に示す U_r/U_f は、皮膚の加齢変化やはり、たるみの測定に適している。

角層バリア機能の指標である経皮水分蒸散量 (trans-epidermal water loss: TEWL) の測定は、開放式水分蒸散量測定計 (Tewameter, Courage & Khazaka, Germany) を用いて、右頬部にプローブを固定し測定した。角層バリア機能は、角層の

生理機能の一つで、約 70%の生体内水分の蒸散や体内成分の喪失を制御すると共に、体外の異物の生体内への侵入を防ぐ機能を示す。角層バリアの機能低下は、皮膚への刺激物質の侵入を容易にし、炎症反応を引き起こし、肌荒れなどのトラブルを誘発する。体内からの過剰な水分の蒸散を抑え乾燥から生体を守る防御作用は、体の内側から外側に向かって単位時間、単位面積あたりに蒸散する水分量、TEWL で表される。開放系の測定法⁴²は、皮膚表面の水分の濃度勾配から Fick の法則によって、TEWL を計算する。二つの湿度センサーが一定の間隔で皮膚表面上に位置するように設計された中空の円筒型のプローブを皮膚にあて、2 点の水分量を測定する。

7.3 解析方法

1.7 節で示した方法に従いマッピング画像を作成する。解析部位は、図 1.6(e)の⑦に示す右頬部で、UV 座標で表すと 4 頂点 (300, 200)、(359, 219)、(300, 269)、及び (359, 269) で囲まれた Rubber band とした。安静時 30 秒間のマッピング画像から血流指標である MBR 値を算出した。皮膚血流に特化した血流波形指標である CVR (皮膚血管抵抗を表わす指標) は式(6.1)で表される。BOT (高い血流量の持続性を表わす指標) 及び Falling rate (血流量の下降速度の時間変動を表わす指標) の式は、図 6.2 に示す。皮表角層水分量は、5 回の測定結果から最大値と最小値を削除して、残り 3 回の測定結果の平均値を求めた。皮膚色 a^* 値は、右頬部の皮膚反射スペクトルを計測して、そのスペクトルから CIE $L^*a^*b^*$ を算出し、5 回の測定結果から平均値を求めた。皮膚弾性 (U_r/U_f) は、図 7.3 の指標から求めた。経皮水分蒸散量は、3 回の測定結果から平均値を求めた。

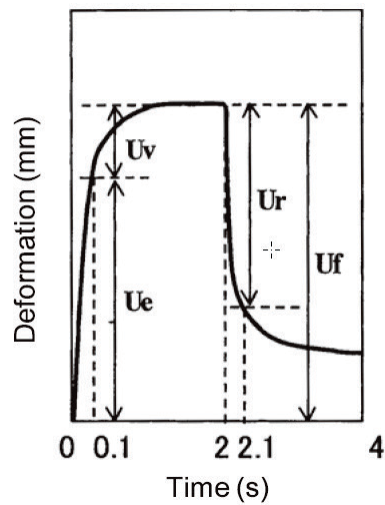


図 7.3 Cutometer で得られる波形と指標

Uv : 遅延伸長、Ue : 即時伸長（吸引開始後 0.1 秒時点）、Ur : 即時収縮（吸引解除後 0.1 秒時点）、Uf : 総伸長、Ur/Uf : 戻り弾性比率（皮膚弾性）

7.4 統計解析

LSFG の血流指標と皮膚性状に関する試験では、血流指標を独立変数とし、皮膚性状を従属変数とした。そして、まず、この 2 変数間の相関の程度を Pearson の積率相関係数（Pearson product-moment correlation coefficient）で評価する。次いで、単回帰分析（A simple linear regression analysis）を行い、これら独立変数の変量が、従属変数の分散を説明できるか（決定係数 R^2 ）で評価した。更に、1 要因の分散分析対応あり（One-Way Repeated-Measures ANOVA）によって、回帰分析全体の有意性を検討した。回帰係数（単回帰分析では、回帰係数と相関係数は等しい）と切片の有意性は、t 検定によって検討した。

7.5 実験結果

LSFG で計測した組織血流量の指標である MBR [au] を独立変数とし、皮膚色 a^* 値を従属変数として、図 7.4(a)に散布図を描いた。その結果、MBR と a^* の間には、直線的な関係（線形関係）が仮定された。更に、最小二乗法により、直線の傾き（0.009）と切片（7.760）を推定した。決定係数 R^2 は、0.301 となり、重相関係数は、0.549 と

なった。そこで、1 要因の分散分析対応ありによって、決定係数の有意性を検討した結果、 $F > F_{0.001}$ となり、決定係数の有意性を統計学的に認めた。更に、回帰係数と切片の有意性を t 検定によって検討した結果、 $t > t_{0.001}$ となり、回帰係数及び切片の有意性を統計学的に認めた。従って、MBR と a^* との間には、有意な正の相関関係が認められた。従って、皮膚組織血流量が高い場合には、皮膚色 a^* 値が高い関係が認められた。

更に、高い血流量の持続性を表わす指標である BOT を独立変数とし、皮表角層水分量を従属変数として、図 7.4(b)に散布図を描いた。その結果、BOT と皮表角層水分量との間には、線形関係が仮定された。そこで、決定係数の有意性を検討した結果、 $F > F_{0.008}$ となり、更に回帰係数と切片の有意性を検討した結果、 $t > t_{0.001}$ となって、統計学的な有意性を認めた。従って、血流量の持続性が高い場合には、皮表角層水分量が高い関係が認められた。

次いで、血流量の下降速度の時間変動を表わす指標である Falling rate を独立変数とし、皮膚弾性 (U_r/U_f) を従属変数として、図 7.4(c)に散布図を描いた。その結果、Falling rate と U_r/U_f との間には、線形関係が仮定された。そこで、決定係数の有意性を検討した結果、 $F > F_{0.001}$ となり、更に回帰係数と切片の有意性を検討した結果、 $t > t_{0.001}$ となって、統計学的な有意性を認めた。従って、血流量の下降速度の時間変動が大きい場合には、皮膚弾性が低い関係が認められた。

最後に、皮膚血管抵抗を表わす指標である CVR を独立変数とし、経皮水分蒸散量を従属変数として、図 7.4(d)に散布図を描いた。その結果、CVR と経皮水分蒸散量との間には、線形関係が仮定された。そこで、決定係数の有意性を検討した結果、 $F > F_{0.001}$ となり、更に回帰係数と切片の有意性を検討した結果、 $t > t_{0.001}$ となって、統計学的な有意性を認めた。従って、皮膚血管抵抗が大きい場合には、経皮水分蒸散量が少ない関係が認められた。

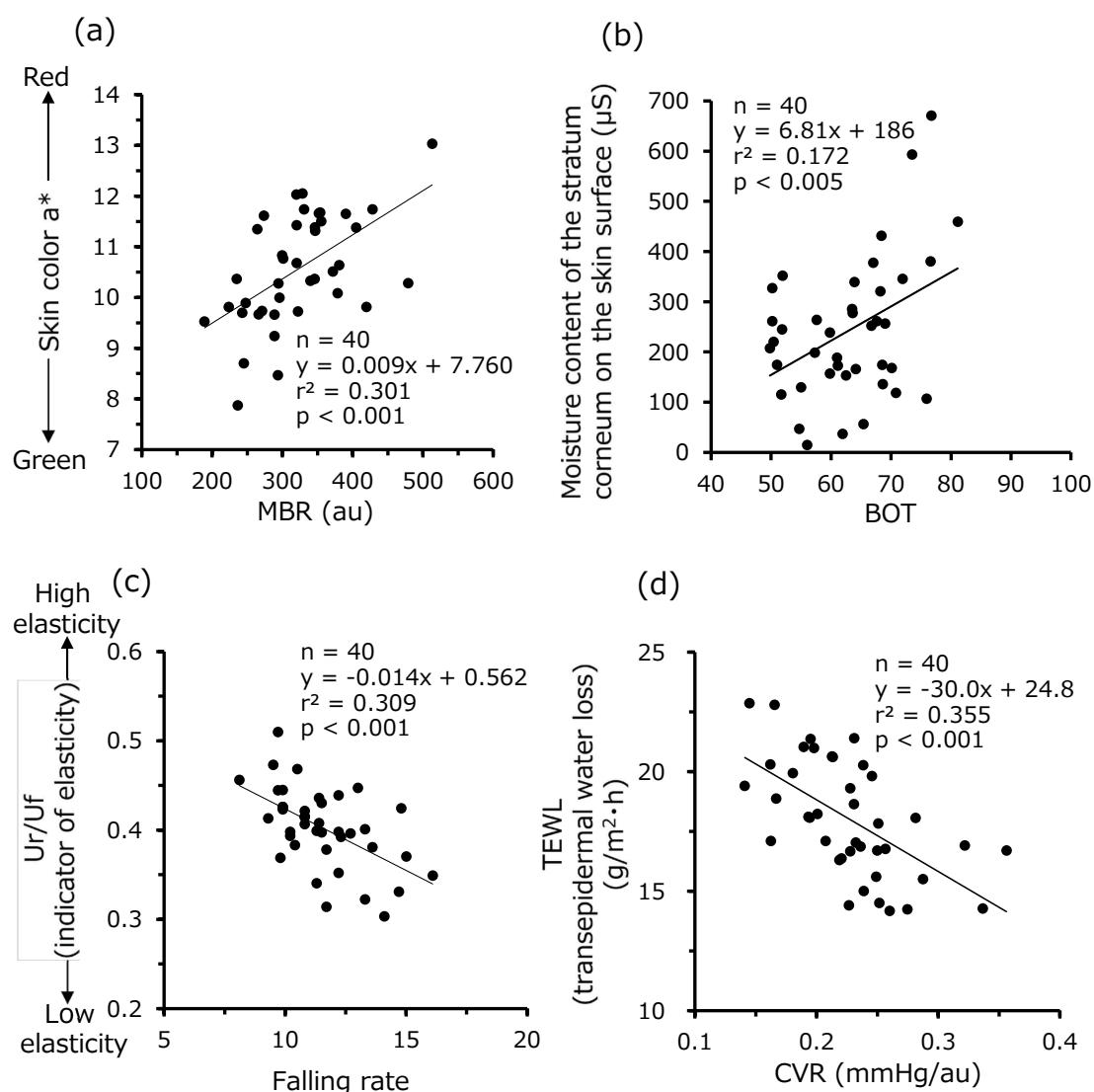


図 7.4 LSFG の血流指標と皮膚性状との関係

対象：20代から30代の健常女性40名（ 30.1 ± 2.01 歳）（a）皮膚色 a^* とMBR（mean blur rate：組織血流量の指標）との関係（b）角層水分量とBOT（Blowout time：高い血流量の持続性を表わす指標）との関係（c）皮膚弾性（Ur/Uf）とFalling rate（血流量の下降速度の時間変動を表わす指標）との関係（d）経皮水分蒸散量（TEWL）とCVR（Cutaneous Vascular Resistance：皮膚血管抵抗を表わす指標）との関係

7.6 考察

皮膚血流から角質層への水分供給を考えると、皮膚血流量と角層水分量との間には、相関性があるのではないかと考えられるが、実際には、有意な相関を認めない報告が多い³¹。そこで、本研究では、LSFG の血流指標である BOT と角層水分量との関係を頬部に

ついて、年齢差による影響を少なくするため 27 歳から 33 歳までの健常女性 40 名（ 30.1 ± 2.01 歳）を対象に検討した。その結果、BOT と皮表角層水分量との間には、有意な正の相関関係が認められた。従来の皮膚血流量の指標ではなく、新たに高い皮膚血流量の持続性を表わす指標ができたので、角層水分量と有意な正の相関関係が認められたのではないかと考えられる。皮膚血流量以外にも皮表角層水分量を制御する因子として、外界の環境湿度や天然保湿因子、細胞間脂質、皮脂膜などの保湿因子が考えられる。従って、同一の因子を計測する機器同士の相関に比べると相関係数が低く感じられるが、個体間の生体因子を比較した場合、多数の変動要因が考えられる中で、2 要因の相関としては、十分に意味のある結果であると考えている。他の皮膚性状と LSFG の血流指標についても同様なことが言える。

皮膚色は、主に血液中に存在する Hb、メラノサイト（Melanocyte）が生成する Melanin によって決定されるが、直射日光や紫外線が当たらない短時間での皮膚色変化は、Hb の寄与が大きい。従って、皮膚組織の a^* 値の即時的な増加は、皮膚の毛細血管、細動脈、及び細静脈を流れる Hb の増加に起因するところが大いと考えられる。本研究では、皮膚色 a^* 値と組織血流量の指標である MBR を比較した結果、皮膚組織血流量が高いと皮膚色 a^* 値が高い可能性が示唆された。しかし、今後、Melanin の影響を考慮しつつ、同一個体で、皮膚色 a^* 値と MBR との関係を検討する必要があると考える。

弾性とは、ひき延ばしてもとに戻る性質をいう。組織の弾性を担っているのは、弾性線維という細胞外線維である。弾性線維は、代謝回転が遅く、老化と共に劣化し再生されないため、さまざまな老化の表現型や老化関連疾患を引き起こす⁴³。動脈壁には脈圧（収縮期圧と拡張期圧の差）を吸収するため弾性板という弾性線維の層があり、これは動脈重量の半分を占めているが、老化によって動脈壁が伸び縮みにくくなると伸びきった動脈は硬く蛇行した管となり脈圧が上昇する。この脈圧の上昇は、心疾患の予後を悪くすることが知られている。皮膚の張りにも弾性線維は重要で、紫外線などによりエラスターゼが誘導されると弾性線維の分解と皮膚のたるみが生じる⁴⁴。このように、皮膚組織の機能にとって重要な役割を果たしている皮膚弾性の評価に本研究では、Suction chamber 法の Ur/Uf と LSFG の血流波形指標である Falling rate（皮膚血流量の下降速度の時間変動を表す指標）を比較した。その結果、皮膚血流量の下降速度が速いと皮膚弾性が低いことが

認められ、皮膚組織に高い血流量を持続できれば、皮膚弾性は高くなる可能性が推察された。本研究は、異なる個体間での比較試験なので、今後は、更に、同一個体で、皮膚弾性と血流との関係を検討する必要があると考える。

皮膚バリア機能は、角層に一定量の水分を保持する、角層の内側の水分の蒸散を防ぐ役割を担っている。この角層水分量は、保湿能と相対湿度に依存するため、角質細胞間脂質の減少するアトピー性皮膚炎患者では保湿能が低下し、ドライスキンになりやすい。このドライスキンは、経皮の水分蒸散を助長して皮膚バリア能を低下させるため、皮膚の感受性を高め、アレルギー感作や掻痒感を誘発するなど病態との関連を有している⁴⁵。皮膚血流の増加は、細動脈の拡張、毛細血管への血流量増加、毛細血管からの水分濾過量を増加し、角層細胞間への水分供給を行うと共に皮膚表面からの水分蒸散も促すと考えられる。本研究では、経皮水分蒸散量と皮膚血管抵抗を表わす指標である CVR を比較した結果、皮膚血管抵抗が大きいと経皮水分蒸散量が少ない可能性が示唆された。

7.7 小括

一心拍時間で正規化した顔面皮膚血流量 MBR を基に皮膚血流に特化した血流波形指標を作成した結果、①組織血流量が高いと皮膚の赤みが高くなる可能性が示唆された。②血流量の持続性が高い場合と皮表角層水分量が高くなる可能性が示唆された。③血流量の下降速度の時間変動が大きいと皮膚弾性が低くなる可能性が示唆された。④皮膚血管抵抗が大きいと経皮水分蒸散量が少なくなる可能性が示唆された。

IV. 総 括

本論文では、非侵襲的に顔面全体の皮膚血流と局所の皮膚血流を比較可能にし、更に皮膚血流の個体間比較ができることを目標とした。その結果、顔面全体と局所の皮膚血流を個体間比較することができるようになったことから、皮膚血流と皮膚性状との関係を明らかにして、皮膚血流を計測することで、皮膚生理物性値を直接計測しなくとも皮膚性状を予測できる可能性が示唆された。

第 1 章では、以前に確立されたレーザースペckル血流計の技術を基に新たに試作検討したレーザースペckル血流計の構成を示した。LSFG の測定原理と光システムの構成条件について述べたのち、組織血流量の指標である MBR の算出方法について述べた。次に、LSFG の解析方法について、光強度マップ→血流マップ→心拍マップ→合成マップ→マッピング画像の順に示した。さらに、LSFG の顔面測定対象部位の指定方法として、顔メッシュを用いたモーフィング技術について述べた。最後に、血流マップを 1 心拍で正規化した心拍マップとビデオカラー画像とのアフィン変換を伴うスーパーインポーズにより LSFG のマッピング画像を作成する方法について述べた。

第 2 章では、OGP を応用したモデル実験により 30mm/sec～1550mm/sec の範囲では、MBR 値は、速度を示す指標として有効であることを示した。また、LSFG に偏光フィルターを装着すると表面反射光を低減させることで脂漏性部位の皮膚血流量を計測するのに有効であることを述べた。

第 3 章では、計測距離の違いによる皮膚血流の安定性を比較した結果、速度と MBR との間には、線形関係があり、加算誤差、及び比例誤差がないことから、25cm と 50cm の計測距離で測定した皮膚血流量は、同等であることが検証できた。更に、計測角度の違いによる皮膚血流の安定性を比較した結果、50cm の計測距離では、顔面各部位が計測視野から外れない計測角度が -30° から 30° の範囲で、安定した皮膚血流量が計測

できた。従って、この計測角度の範囲では、実用上は、十分に応用できることが明らかとなった。

第4章では、既存の血流計とLSFGを比較することで、本試作機が正確な皮膚血流量を計測できるか検討した。TDMの傾きは、MBR値と有意な負の相関関係が認められた。このTDMの傾きは、皮膚血流量と反比例の関係にあることが、Graysonの理論によって、明らかにされたことから、LSFGで計測したMBR値は、皮膚血流量を示す指標として有効であることを示した。

第5章では、皮膚血流量の絶対値計測が可能で、既に計測法が確立されているSPGで計測した皮膚血流量とLSFGで計測した皮膚血流量の指標であるMBR値との間には、有意な正の相関関係が認められた。従って、LSFGで計測したMBR値は、皮膚血流量を示す指標として有効である可能性を示した。

第6章では、LSFGの応用例として、まず、LSFGの血流指標と加齢との関係について検討した。その結果、一心拍時間で正規化した顔面皮膚血流量MBRを基に皮膚血流に特化した血流波形指標は、加齢と共に末梢血管抵抗が高まり、皮膚組織への血液の流入が抑制され、血流量がピークに達してから急激に低下するので皮膚組織に血流量を維持する能力が低下している可能性を示した。

第7章では、LSFGの血流指標と皮膚性状との関係について検討した。その結果、一心拍時間で正規化した顔面皮膚血流量MBRを基に皮膚血流に特化した血流波形指標は、①組織血流量が高いと皮膚の赤みが高くなる可能性が示唆された。②血流量の持続性が高いと皮表角層水分量が高くなる可能性が示唆された。③血流量の下降速度の時間変動が大きいと皮膚弾性が低くなる可能性が示唆された。④皮膚血管抵抗が大きいと経皮水分蒸散量が少なくなる可能性が示唆された。

従って、LSFG は、皮膚血流量を評価する機器として、非侵襲で、連続的に部位を限定されことなく皮膚血流量を計測することが可能となった。その結果、顔面全体と局所の皮膚血流量を個体間比較することが可能となり、皮膚血流を計測すると皮膚生理物性値を直接計測しなくとも皮膚性状を予測できる可能性が示唆された。今後の課題として、更に LSFG の測定波長を広げ、サンプリング周波数を高めることで、測定精度を向上させ、健康管理を目的とした医療分野はもとより、美容分野への応用が期待される。

V. 倫 理 承 認

本研究の倫理について、この論文のすべての研究は、花王株式会社の倫理委員会に承認を得ており、本研究に参加して下さったすべての被験者には、本研究の内容と施行法を説明し、書面にて同意を得た後、実験を遂行した。すべての臨床試験は、ヘルシンキ宣言に示された倫理規定にそったものである。

VI. 謝 辞

本論文の作成するにあたり、終始ご懇意なるご指導を頂きました九州工業大学大学院情報工学研究院物理情報工学研究系・岡本 卓教授に深謝致します。また、多くの有益なご助言を賜りました九州工業大学大学院情報工学研究院物理情報工学研究系・安田 敬教授、同知的システム工学研究系・鈴木恵友教授、同知能情報工学研究系・齊藤剛史准教授、同情報・通信工学研究系・小西直樹准教授に感謝致します。

本研究は、花王株式会社東京研究所において行われ、本研究の機会を与えて下さいました研究開発部門統括・長谷部佳宏博士に感謝致します。また、研究戦略企画部部长・前田晃嗣氏、パーソナルヘルスケア研究所所長・富士 章氏の皆様から終始温かい励まし並びにご指導を頂き、深く感謝致します。

本研究を行うにあたり直接ご指導、ご鞭撻を賜りました九州工業大学名誉教授・藤居 仁博士、北海道医療大学名誉教授・和泉博之博士、北里大学医学部薬理学教授・馬嶋正隆博士、大阪大学国際医工情報センター招聘研究員・梅野克身博士、健康ソリューションプロジェクトリーダー・仁木佳文氏をはじめパーソナルヘルスケア研究所、並びにスキンケア研究所各位に深く感謝致します。

本研究は、パーソナルヘルスケア研究所健康ソリューションプロジェクト各位、ソフトケア有限会社品質課課長・高橋則善氏、並びに株式会社メディックエンジニアリング代表取締役・谷尻豊寿氏らの多大なご協力なしでは行うことはできませんでした。心より感謝致します。

最後に、北里大学薬学部にて在学中から本論文を作成するに至るまで、終始懇切なご指導・ご鞭撻を賜りました北里大学名誉教授・大石幸子博士に心より深謝致します。

VII. 参 考 文 献

- [1] Nagashima Y, Yada Y, Suzuki T and Sakai A 2003 *International Journal of Biometeorology* **47** 139–147
- [2] Stern MD 1975 *Nature* **254** 56–58
- [3] Nilsson GE, Tenland T and Oberg PA 1980 *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* **27** 12–19
- [4] Bonner RF, Clem TR, Bowen PD and Bowman RL 1981 in *Biological Applications in Scattering Techniques Applied to Supramolecular and Nonequilibrium Systems*, Chem SH, Ed., pp. 685–701, Springer, Boston
- [5] Fercher AF and Briers JD 1981 *Optics Communication* **37** 326–330
- [6] Wårdell K, Jakobsson A and Nilsson GE 1993 *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* **40** 309–316
- [7] Konishi N, Tokimoto Y, Kohra K, and Fujii H 2002 *Optical Review* **9** 163–9
- [8] Fujii H, Nohira K, Yamamoto Y, Ikawa H and Ohura T 1987 *Applied Optics* **26** 5321–5
- [9] Goodman JW 1975 in *Laser Speckle and Related Phenomena (Section 2.6), Topics in Applied Physics* **9**, Dainty JC Ed., 46–60, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York
- [10] Philipp M and Philipp G 2009 *Evolutionary Biology* **36** 235–247
- [11] Miyashita W and Nakahara R 2005 *Orthodontic Waves-Japan Ed.* **64** 36–43
- [12] Patrick ES and Joseph LF 1979 *Psychological Bulletin* **86** 420–428
- [13] Tamaki Y, Araie M, Tomita K, Nakahara M, Tomidokoro A and Fujii H 1997 *Japan Journal Ophthalmology* **41** 49–54
- [14] Lee MC, Konishi N and Fujii H 2003 *Optical Review* **10** 562–566
- [15] Anderson RR 1991 *Archives of Dermatology* **127** 1000–1005
- [16] Groner W, Winkelman JW, Harris AG, Ince C, Bouma GJ, Messmer K and Nadeau RG 1999 *Nature Medicine* **5**(10) 1209
- [17] Bland JM and Altman DG 1986 *Lancet* **327** 8476 307–310
- [18] Bland JM and Altman DG 1995 *Lancet* **346** 1085–1087
- [19] Nagahara M, Tamaki Y, Tomidokoro A and Araie M 2011 *Investigative*

Ophthalmology & Visual Science **52** 87–92

- [20] Aschoff J and Wever R 1957 *Verh Dtsch Ges Kreislaufforsch* **23** 375–380
- [21] Schröder J and Voridis J 1955 *Pflugers Archiv für die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere* **261** 550–556
- [22] Sakai A 1988 *Japanese Journal of Applied Physiology* **18** 5–10
- [23] Grayson J 1952 *Journal of Physiology* **118** 54–75
- [24] Philip Carter L, Erspamer R and Bro WJ 1981 *Stroke* **12** 513–518
- [25] Hokanson DE, Sumner DS and Strandness DE 1975 *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* **22** 25–29
- [26] Branten AJ, Smits P, Jansen TT, Wollersheim H and Thien T 1996 *Journal of Cardiovascular Pharmacology* **27** 303–306
- [27] Nagashima Y, Ohsugi Y, Niki Y, Maeda K and Okamoto T 2015 *Proceedings of SPIE* **9792** 979218
- [28] Agur AMR and Dalley AF 2017 Upper limb in *Grant's Atlas of Anatomy* (Chapter 2), 14th Ed., pp. 140–163, Wolters Kluwer, Alphen aan den Rijn, Netherlands
- [29] Birch R 2015 Pectoral girdle and upper limb in *Gray's Anatomy* (Section 6), 41st Ed., S. Standring, Ed., pp. 879–885, Elsevier, Amsterdam, Netherlands
- [30] Kelly RI, Pearse R, Bull RH, Leveque JL, de Rigal J and Mortimer PS 1995 *Journal of the American Academy of Dermatology* **33** 749–756
- [31] Ishihara M et al. 1988 Cutaneous Blood flow in *Cutaneous Aging*, A. M. Kligman, Y. Takase, Eds., pp. 167–181, University of Tokyo Press, Tokyo
- [32] Tolino MA and Wilkin JK 1988 *In Journal of Investigative Dermatology* **90**, 613
- [33] Chung JH, Yano K, Lee MK, Youn CS, Seo JY, Kim KH, Cho KH, Eun HC Detmar M 2002 *Archives of Dermatology* **138** 1437–1442
- [34] Roustit M and Cracowski JL 2013 *Trends in Pharmacological Sciences* **34**, 373–384
- [35] Shiba T, Takahashi M, Hashimoto R, Matsumoto T and Hori Y 2016 *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* **254** 1195–1200
- [36] 清水 宏 2018 あたらしい皮膚科学 第3版 中山書店 東京 p. 1

- [37] 花王株式会社 肌の基礎知識 肌とはなにか
<https://www.kao.com/jp/skincare/skin/structure-01/>
- [38] 花王株式会社 肌の基礎知識 真皮の構造と働き 血管
<https://www.kao.com/jp/skincare/skin/structure-04/>
- [39] Jansen van Rensburg S, Franken A, Lodewykus Du Plessis J 2019 *Skin Research & Technology* **00** 1–11
- [40] Commission Internationale de l'Eclairage (CIE) (1978). Official recommendation on color spaces, color difference equations and metric color terms, Supplement No.2 for CIE-Publication No.15, Colorimetry (E-1.3.1), 1971
- [41] Bonaparte JP, Ellis D, Chung J 2013 *Journal of Medical Engineering & Technology* **37** 208–212
- [42] De Paepe K, Houben E, Adam R, Wiesemann F, Rogiers V 2005 *Skin Research and Technology* **11**: 61–69
- [43] Yanagisawa H, Davis EC, Starcher BC, Ouchi T, Yanagisawa M, Richardson JA, Olson EN 2002 *Nature* **415** 168–171
- [44] Hirose R, Kligman LH 1988 *Journal Investigative Dermatology* **90**: 697–702
- [45] Imokawa G, Abe A, Jin K, Higaki Y, Kawashima M, Hidano A 1991 *Journal Investigative Dermatology* **96** 523–526

Ⅷ. 業 績 一 覧

■ 博士論文に関連した業績

(Ⅰ) 原著・Journals

1. Nagashima Y, Ohsugi Y, Hiraishi M, Niki Y, Fuji A, Majima M, Okamoto T: Development of laser speckle blood flowmeter for evaluating the physiological function of skin. *Biomed. Phys. Eng. Express* **5**, 055012 (2019).
2. Ohsugi Y, Nagashima Y, Nakatsu S, Sato K, Chiba A, Fujinaka H, Yana Y, Niki Y: Age related changes in gingival blood flow parameters measured using laser speckle flowmetry. *Microvasc. Res.* **122**, 6–12 (2019).

(Ⅱ) 準原著・Proceedings

1. Nagashima Y, Ohsugi Y, Niki Y, Maeda K, Okamoto T: “Assessment of laser speckle flowgraphy: Development of novel cutaneous blood flow measurement technique,” *Proceedings of SPIE*. **9792**, 979218 (2015).
2. Nagashima Y, Umeno K, Ohsugi Y, Niki Y, Okamoto T, Maeda K: Age-related changes in resting-state low-frequency fluctuations of pulse waves of laser speckle flowgraphy in different areas of face - Power spectral and coherence analyses in healthy Japanese women -. Proceeding of the 18th Annual Meeting of the Japan Society of Kansei Engineering, Tokyo 2016, pp. 38–41.
3. Nagashima Y, Ohsugi Y, Hiraishi M, Niki Y, Maeda K, Okamoto T: A novel analytical method of facial skin blood flow by laser speckle flowgraphy (LSFG). Proceeding of the 24th Congress of the International Commission for Optics ICO-24, Tokyo, 2017, P6-07.

(Ⅲ) 学会発表・Conferences

1. Nagashima Y, Ohsugi Y, Niki Y, Umeno K, Maeda K: Comparison of respiratory sinus arrhythmia in the two groups of young and middle-aged Japanese healthy women in response to randomized breathing: Transfer function and coherence analysis for human health care. The 93rd Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, 2016, Sapporo.
2. Nagashima Y, Umeno K, Ohsugi Y, Niki Y, Maeda K: Age-related correlation

between body mass index and cardiac autonomic induces by transfer function analysis in healthy Japanese women. The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, 2016, Yokohama.

3. Nagashima Y, Umeno K, Ohsugi Y, Niki Y, Okamoto T, Maeda K: Age-related changes in resting-state low-frequency fluctuations of pulse waves of laser speckle flowgraphy in different areas of face - Power spectral and coherence analyses in healthy Japanese women -. The 18th Annual Meeting of the Japan Society of Kansei Engineering, 2016, Tokyo.
4. Nagashima Y, Ohsugi Y, Hiraishi M, Niki Y, Fuji A, Majima M, Okamoto T: Development of the laser speckle flowgraph for evaluating the physiological function of the skin. The 41th Annual Meeting of the Japanese Society for Microcirculation, 2016, Tokyo.
5. 永嶋義直、梅野克身、大杉侑子、仁木佳文、前田晃嗣：レーザスペckル血流計による顔面の脈波成分と血圧及び心拍の変動パワースペクトル及びコヒーレンスの加齢による影響. 第 69 回日本自律神経学会総会, 2016, 熊本.
6. Nagashima Y, Ohsugi Y, Hiraishi M, Niki Y, Maeda K, Okamoto T, Majima M: Age-related changes in resting blood flow velocity waveforms from facial cheek skin area in healthy Japanese women examined by Laser Speckle Flowgraphy. The 42nd Annual Meeting of the Japanese Society for Microcirculation, 2017, Toyama.
7. Nagashima Y, Ohsugi Y, Hiraishi M, Niki Y, Maeda K, Okamoto T: A novel analytical method of facial skin blood flow by laser speckle flowgraphy (LSFG). The 24th Congress of the International Commission for Optics, 2017, Tokyo.
8. Nagashima Y, Umeno K, Ohsugi Y, Hiraishi M, Niki Y, Okamoto T, Maeda K: Age-related changes in coherent activity of low-band frequency fluctuations between pulse waves from face laser speckle flowgraphy and autonomic functions; heart rate, systolic or diastolic pressure variabilities during the resting-state. International Society for Autonomic Neuroscience Congress, 2017, Nagoya.
9. Nagashima Y, Ohsugi Y, Hiraishi M, Niki Y, Fuji A, Okamoto T: Analysis of facial skin blood flow using novel indices from laser speckle flowgraphy (LSFG). Optics & Photonics Japan, 2017, Tokyo.
10. Nagashima Y, Ohsugi Y, Hiraishi M, Niki Y, Fuji A, Okamoto T, Majima M: Correlation between indices of facial skin blood flow measured using LSFG and skin properties. The 43rd Annual Meeting of the Japanese Society for Microcirculation, 2017, Asahikawa.

■その他の業績

(I) 原著・Journals

1. Gorlova S, Ichiba T, Nishimaru H, Takamura Y, Matsumoto J, Hori E, Nagashima Y, Tatsuse T, Ono T, Nishijo H: Non-restorative sleep caused by autonomic and electroencephalography parameter dysfunction leads to subjective fatigue at wake time in shift workers. Front. Neurol. 10: 66. doi: 10.3389/fneur.2019.00066. eCollection 2019 (2019).

(II) 準原著・Proceedings

1. Nagashima Y, Ohsugi Y, Niki Y, Umeno K, Maeda K: Comparison of respiratory sinus arrhythmia in the two groups of young and middle-aged Japanese healthy women in response to randomized breathing: Transfer function and coherence analysis for human health care. Proceeding of the 93rd Annual Meeting of the Physiological Society of Japan. (Y. Ishikawa), Yokohama, 2016, 66, suppl1, S107.

(III) 学会発表・Conferences

1. Nagashima Y, Ohsugi Y, Niki Y, Maeda K, Okamoto T: Assessment of laser speckle flowgraphy: Development of novel cutaneous blood flow measurement technique. SPIE-OSJ Biophotonics Japan, 2015, Tokyo.
2. Nagashima Y, Umeno K, Ohsugi Y, Hiraishi M, Niki Y, Maeda K: Age-related changes in baroreceptor sensitivity from transfer gain and coherence between SBP and RR in healthy Japanese women in response to random interval breathing. The 40th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, 2017, Chiba.